ENCYCLOPÉDIE SCIENTIFIQUE

DES

AIDE-MÉMOIRE

PUBLIÉE

OUS LA DIRECTION DE M. LÉAUTÉ, MEMBRE DE L'INSTITUT

Ce volume est une publication de l'Encyclopédie scientifique des Aide-Mémoire; F. Lafargue, ancien élève de l'École Polytechnique, Secrétaire général, 169, boulevard Malesherbes, Paris.

N° 199 B.

ENCYCLOPÉDIE SCIENTIFIQUE DES AIDE-MÉMOIRE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION

DE M. LÉAUTÉ, MEMBRE DE L'INSTITUT.

SPECTROSCOPIE BIOLOGIQUE

—

SPECTROSCOPIE

DES ORGANES
DES TISSUS ET DES HUMEURS

PAR

A. HÉNOCQUE

Directeur-adjoint du Laboratoire de Physique Biologique
du Collège de France

PARIS

MASSON ET Cie, ÉDITEURS,
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
Boulevard Saint-Germain, 120

GAUTHIER-VILLARS ET FILS,
IMPRIMEURS-ÉDITEURS
Quai des Grands-Augustins, 55

OUVRAGES DE L'AUTEUR PARUS
DANS LA COLLECTION DE L'ENCYCLOPÉDIE

I. Spectroscopie du sang.

II. Spectroscopie des organes, des tissus et des humeurs.

III. Spectroscopie de l'urine et des pigments.

INTRODUCTION

—

Dans un premier volume (1), j'ai établi les principes de la spectroscopie biologique, et j'ai pris comme exemples des applications des études spectroscopiques à la physiologie, les découvertes qui ont donné à la spectroscopie du sang une importance considérable dans les recherches de pathogénie et de séméiologie du sang (2).

Dans la présente publication je compléterai une exposition plus générale de la spectroscopie biologique, telle que je l'ai déjà définie : *l'étude des phénomènes spectroscopiques ob-*

---

(1) A. Hénocque. — *Spectroscopie du sang.* Encyclopédie scientifique des Aide-Mémoire, Gauthier-Villars et Masson, 1895.

(2) A. Hénocque. — *Spectroscopie du sang. Séméiologie,* in *Traité de Pathologie générale* de Bouchard, t. IV. Masson, 1897.

serrés dans les corps organisés, l'organisme et les produits organiques, toutefois en me limitant aux organismes animaux et à leurs produits, c'est-à-dire à la *spectroscopie des animaux*.

C'est dans cet esprit que je consacre, les trois premiers chapitres, à l'étude spectroscopique des organes, ce qui me permet d'exposer complètement et avec le développement qu'il comporte, mon procédé d'analyse du sang à travers les tissus, sans extraire aucune goutte de ce liquide et qui est aussi, un moyen de doser la richesse vasculaire ou même l'activité de la circulation, soit l'hyperhémie, la congestion ou l'anémie, et la cyanose.

S'il est difficile d'établir des limites très précises, entre les organes et les tissus, les humeurs et les produits organisés dans les études spectroscopiques où nous avons souvent une superposition de diverses parties constituantes de l'organisme, il est possible de suivre un plan en rapport avec les classifications habituellement employées en biologie en restant au point de vue pratique.

J'étudierai donc successivement la spectroscopie des organes accessibles à l'examen direct, tels que les téguments, les muqueuses, l'œil, les

organes de divers animaux qui, par leur transparence, leur ténuité, leur coloration spéciale peuvent être observés chez l'animal vivant, puis je rechercherai dans les organes mis à nu par la vivisection (cœur, muscles, etc.), et enfin, par l'examen anatomique, après la mort, des indications applicables à la physiologie, à la pathologie et même à l'hygiène et à la médecine légale.

Les humeurs présentent, normalement ou accidentellement, des réactions spectroscopiques qui seront étudiées dans quatre chapitres.

Parmi les humeurs constituantes, la spectroscopie du sang ayant été exposée dans mon premier Aide-Mémoire, je n'ai eu qu'à traiter du sérum, des sérosités, de la lymphe, et, plus particulièrement, du sang des invertébrés et des hémolymphes, qui d'ailleurs ont été l'objet de travaux importants.

J'ai consacré les deux derniers chapitres à la spectroscopie de la bile, qui présente une si grande importance en physiologie et en chimie biologique. J'ai aussi complété la spectroscopie des *sécrétions* par des indications sur le lait et ses colorations.

Dans ces diverses études, j'ai eu soin de donner les principaux modes de préparation et d'isolement nécessaires à l'analyse spectrosco-

pique, en y ajoutant les propriétés chimiques qui constituent l'ensemble des réactions caractéristiques, en outre, il m'a semblé utile de résumer ce que nous connaissons de plus précis sur le rôle de la plupart de ces pigments, en physiologie générale, et leurs modifications dans l'état pathologique, enfin les relations qu'ils présentent entre eux dans leurs transformations à travers l'organisme.

La spectroscopie biologique ainsi comprise offre un caractère synthétique qui en élargit le champ d'observation, lui donnant un intérêt plus général et une place plus élevée dans la science de la vie.

Pour compléter la spectroscopie des humeurs, un troisième volume nous est nécessaire. Il comprend la spectroscopie des excrétions, de l'urine, en particulier, et la spectroscopie des pigments ou produits d'origine animale.

A. Hénocque.

CHAPITRE PREMIER

—

SPECTROSCOPIE DES ORGANES ET DES TISSUS VIVANTS

Les recherches spectroscopiques faites sur les organes et les tissus, pendant la vie ou après la mort n'ont pas encore été le sujet d'une étude d'ensemble, et, pour les exposer, il est essentiel de distinguer entre les organes que nous pouvons étudier directement, sans aucune intervention traumatique, et ceux dont l'observation nécessite une dissection, destinée à les mettre à découvert. Nous pouvons examiner directement au spectroscope les téguments, les muqueuses, l'œil, chez l'homme, et, chez les animaux, il est possible d'étudier les parties minces ou translucides d'une faible épaisseur.

Le dispositif à employer si l'on veut simplement étudier la réaction spectroscopique, con-

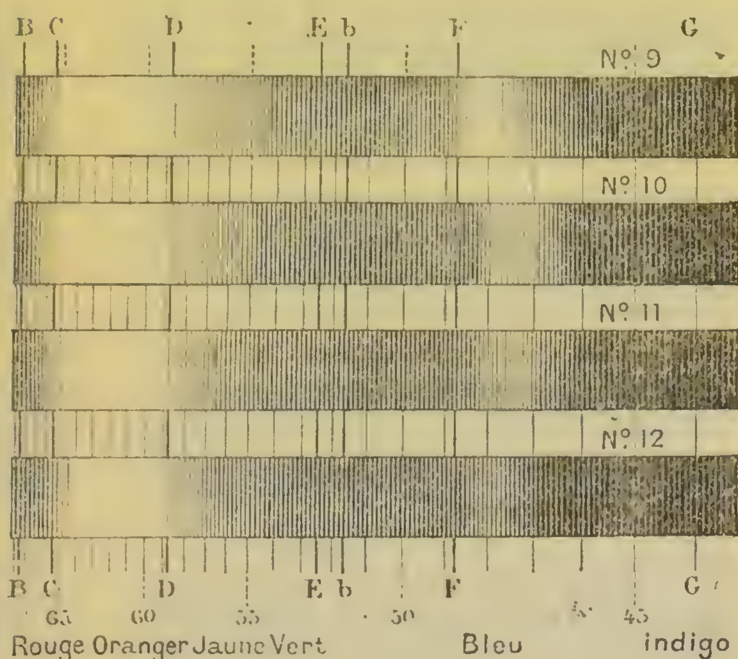
siste à bien éclairer la partie à examiner avec la lumière solaire, soit par transparence, soit directement par la lumière diffuse, et à se servir d'un spectroscope à vision directe que l'on rapproche plus ou moins de l'objet à étudier. On peut alors faire une analyse spectrale qualitative ; mais il est possible d'obtenir des observations d'une valeur bien plus pratique, chez l'homme, par l'analyse spectroscopique de la vascularisation des téguments et des muqueuses, en suivant mes procédés d'observation.

Il suffit d'avoir étudié chez diverses personnes l'activité de la réduction ou, simplement, d'avoir observé au spectroscope, à vision directe, des régions diverses de la peau, ou des muqueuses, pour constater que la bande de l'oxyhémoglobine visible au spectroscope est plus ou moins large suivant qu'on examine des parties plus ou moins vascularisées. Cette observation m'a conduit à rechercher le moyen de comparer ces diverses intensités, de déterminer le rapport qui existe entre le degré d'intensité d'absorption et la richesse du sang en oxyhémoglobine, et j'ai réussi à résoudre ce problème. *Il est donc désormais possible de faire l'analyse quantitative* de l'oxyhémoglobine du sang à travers l'ongle, la peau, les muqueuses, les divers tissus mis à nu avec

une approximation suffisante pour être utilisée dans les études cliniques et la pratique ordinaire, au moyen d'un spectroscope garni de verres colorés et gradués. Ce dispositif constitue l'appareil très simple que j'ai appelé *Analyseur chromatique* (1).

Analyseur chromatique. — Cet instrument a pour

Fig. 1



(1) A. Hénocque. — *Analyse du sang dans les tissus vivants* (Analyseur chromatique, archives de Physiologie norm. et patholog. de Brown-Séquard), n° 1, janvier 1893, p. 30.

principe les phénomènes d'atténuation des bandes de l'oxyhémoglobine par des verres colorés.

Après avoir étudié l'action des verres de toutes les couleurs simples sur le spectre du sang, j'ai définitivement choisi des verres jaunes, orangés, chromés, et je les ai disposés en séries d'épaisseurs déterminées et progressives en les plaçant successivement devant le diaphragme du spectroscope.

Ainsi que le montre la *fig.* 1, ces verres, suivant leur épaisseur et, par conséquent, l'intensité de leur coloration, atténuent plus ou moins, éteignent même les plages violette, bleue, verte et jaune-vert, pour ne laisser apparaître que le jaune-orangé à leur plus grande épaisseur.

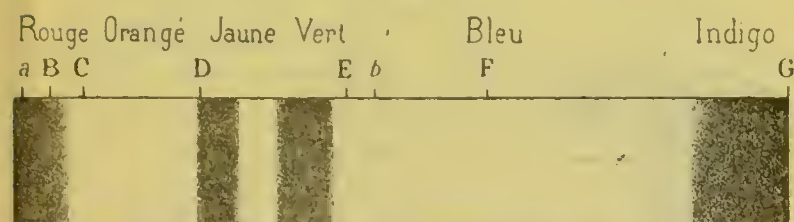
Si nous superposons ces verres au spectre du sang, dans l'hématoscope ou simplement au spectre de l'ongle ou de la paume de la main, nous voyons, ainsi que le démontre la *fig.* 2, le spectre s'assombrir, et, suivant l'épaisseur progressive des verres n°s 9, 10, 11, 12, les deux bandes de l'oxyhémoglobine se détacher moins nettement, devenir difficilement perceptibles, enfin se confondre dans l'obscurité qui est générale, les rayons lumineux étant pour la plupart absorbés, sauf les rouges et les orangés.

Partant de ce fait, j'ai déterminé les épaisseurs et l'intensité de coloration des verres jaunes qui correspondent à une quantité donnée d'oxyhémoglobine contenue dans le sang examiné à la paume de la main, alors que les bandes cessent d'être perceptibles, et j'ai adopté un dispositif auquel j'ai donné le nom d'*analyseur chromatique* (*fig.* 3).

Cet appareil se compose essentiellement d'un disque

percé d'ouvertures circulaires dans lesquelles sont enchâssés des verres jaunes, d'épaisseur et de colora-

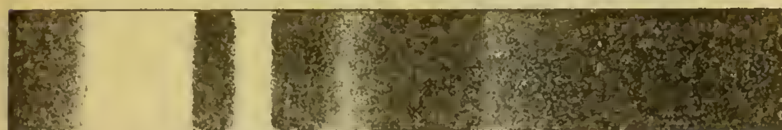
Fig. 2



Examen sans verre coloré



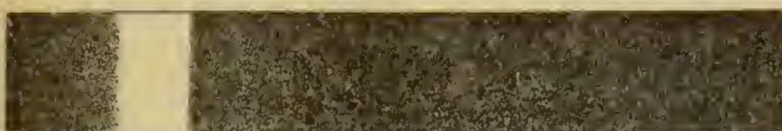
Examen avec verre jaune n° 9



verre jaune n° 10



verre jaune n° 11

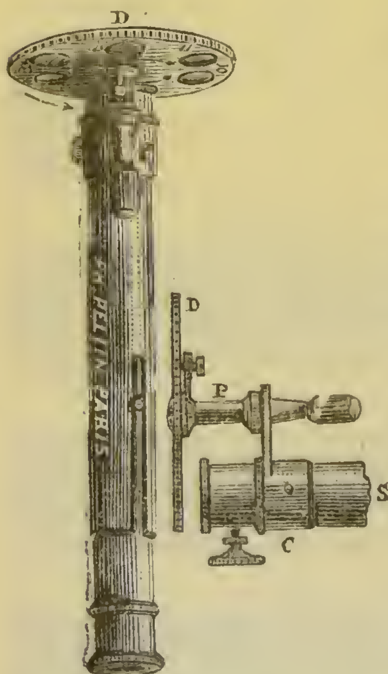


verre jaune n° 12 *E Oberlin del.*

Spectre de l'ongle
pour 11 % d'oxyhémoglobine.

tion progressivement variées, et un verre bleu urané ; l'un des orifices reste libre pour laisser voir le spectre pur (*fig.* 3). Ce disque D est mobile, sur un axe perpendiculaire P fixé à un collier C qui s'adapte au tube d'un spectroscope à vision directe, immédiatement en avant de la fente du diaphragme. En faisant tourner le disque, on fait passer successivement les verres devant la fente du spectroscope et l'on peut étudier ainsi les spectres de chaque verre et leur effet sur le spectre de la peau, de l'ongle ou de divers tissus.

Fig. 3



Le maniement en est des plus simple : on commence par viser avec le spectroscope, dont la fente est mise au milieu de l'orifice libre, la paume de la main dont les doigts sont à demi-fléchis et qui est exposée à la lumière du jour diffuse, en face d'une fenêtre, mais en évitant les rayons solaires intenses et directs. On voit alors se dessiner les bandes de l'oxyhémoglobine (*fig.* 2, 1er spectre), et afin de les reconnaître plus distinctement, on fera tourner le disque pour placer le verre bleu devant la fente du spectroscope (*fig.* 4).

Pour l'analyse de l'intensité de ces bandes et, par conséquent, l'appréciation de la quantité d'oxyhémoglobine contenue dans le sang, il faut faire passer successivement, devant la fente, les verres jaunes, en commençant par le plus clair (n° 9) pour arriver au plus foncé (n° 12); on recherchera ainsi avec quel verre les deux bandes cessent d'être perçues, et le chiffre gravé sur le disque, près du verre, indique, la quantité d'oxyhémoglobine contenue dans le sang. Lorsqu'il y a doute, il faut examiner plusieurs fois avec les divers verres, et même on pourra prendre la moyenne entre les deux chiffres qui se suivent immédiatement. Par exemple, si les bandes visibles nettement à 11 sont encore à peine perceptibles à 12, on peut conclure qu'il y a 11,5 °/₀ d'oxyhémoglobine.

Il m'a paru que, pour les applications à la clinique, il suffisait d'un disque de quatre verres correspondant à 9, 10, 11, 12 °/₀ d'oxyhémoglobine, et d'un verre bleu. car on peut ainsi reconnaitre non seulement des quantités de 9 à 13 °/₀, mais si avec l'orifice libre on perçoit la bande et qu'elle disparaisse avec le verre 9, l'on conclura que le sang contient moins de 9 °/₀ d'oxyhémoglobine, et si, avec l'orifice libre, on ne voyait pas la bande à la paume de la main, il y aurait moins de 8 °/₀, soit 7 environ; enfin, alors que la bande ne se verrait pas même avec le verre bleu, la quantité d'oxyhémoglobine serait descendue aux limites les plus basses, 6 ou 5. Dans ces cas, d'ailleurs, il faudrait faire le contrôle avec l'examen du sang recueilli dans l'hématoscope à l'aide d'une piqûre au doigt [1].

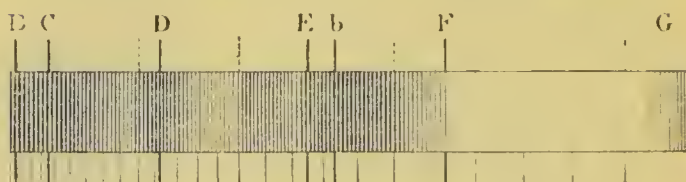
---

[1] M. Pellin construit aussi un disque dit « physiologique » qui porte des verres indiquant les quantités extrêmes d'oxyhémoglobine 13 °/₀, 5, 6, 7 °/₀. Ce disque peut se monter à la place du disque ordinaire sur le même spectroscope, et il est renfermé dans la même gaine.

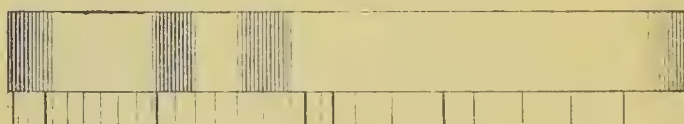
La *fig.* 4 montre les différents spectres du verre bleu

Fig. 4

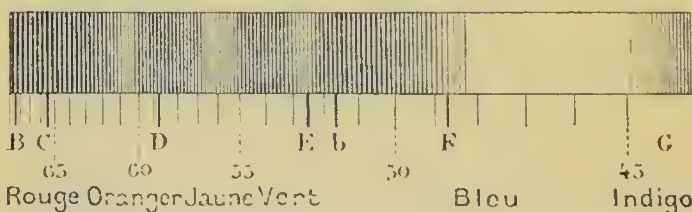
Spectre du verre bleu condensateur.



Spectre de l'ongle.



Superposition des deux spectres.



de l'ongle, et la superposition des deux spectres (1).

Spectre des diverses régions cutanées ou muqueuses. — L'emploi de l'analyseur chromatique rend intéressante et utile l'étude

(1) Le verre bleu spécial est destiné à renforcer les bandes du spectre du sang, il est condensateur. Le mode d'action de ce verre s'explique par ce fait qu'il présente, à un faible degré, un spectre analogue à celui de l'oxyhémoglobine, de sorte qu'en se superposant à celui-ci, lorsqu'on examine la surface cutanée, les bandes caractéristiques sont beaucoup plus intenses, elles sont renforcées.

spectroscopique des surfaces tégumentaires, non seulement au point de vue du dosage de l'oxy-hémoglobine du sang, mais aussi à l'égard de l'appréciation de la vascularisation normale ou pathologique des divers organes accessibles à notre investigation. Mes recherches dans ces deux directions ont donné des résultats importants. En effet, tandis que l'examen de la paume de la main, de l'ongle, du front, donnent des résultats à peu près identiques, il n'en est pas de même pour les lèvres et la face interne des lèvres, ou bien pour la conjonctive palpébrale. En général, on trouve pour ces deux muqueuses un chiffre de 1 à 2 $^0/_0$ supérieur à celui qui s'observe à la surface cutanée, et ce fait constitue un nouveau moyen de contrôle de mon procédé d'analyse, qui sera surtout utile dans les cas d'anémie extrême; en effet, lorsque la bande n'est pas perceptible à l'ongle avec le spectroscope nu, c'est-à-dire qu'il y a moins de 9 $^0/_0$; si elle apparaît aux lèvres avec le n° 9, on peut conclure à la présence de 8 $^0/_0$ d'oxyhémoglobine au plus dans le sang.

Chez l'enfant nouveau-né, au contraire, ces différences sont moins accentuées; on trouve souvent les mêmes chiffres à la main et aux lèvres. J'ai constaté de dix à onze et même douze

chez plusieurs nouveau-nés, et dix et onze en particulier chez deux enfants, nés à six et huit mois de grossesse, âgés de un à deux jours.

Plus tard, la différence se prononce et, quelques semaines après la naissance, la lèvre donne 1 à 2 % de plus que la paume de la main ; de sorte que, chez l'enfant, il faut prendre le front comme lieu d'élection de l'examen spectroscopique.

Parallèlement à ces variations régionales, il existe des modifications passagères ; c'est ainsi que chez l'enfant, dans les premières semaines, les cris amènent la rougeur du visage, augmentent l'intensité des bandes d'oxyhémoglobine, et le spectre du front ressemble alors à celui des lèvres et même de la langue. Chez les femmes à coloration vive, la joue donne un résultat spectroscopique analogue à celui des lèvres, surtout lorsque l'émotion amène la rougeur de la face.

Ces variations dans l'intensité des bandes d'oxyhémoglobine dépendent de la richesse du sang du sujet observé et, probablement aussi, de l'épaisseur et de la pigmentation des téguments, bien que certaines expériences me démontrent que l'influence pigmentaire n'a qu'une importance accessoire ; mais c'est évidemment l'état de vascularisation qui explique le mieux ces différences, et, par conséquent, il y a un grand

intérêt à les étudier dans les conditions les plus variées. Cette simple observation que, chez un homme ayant 11 % d'oxyhémoglobine à l'ongle, on trouve un chiffre de 13 % à la face interne de la lèvre, montre que la vascularisation superficielle de la lèvre est à celle de la surface sous-unguéale comme 13 est à 11, c'est-à-dire environ un septième de la quantité d'oxyhémoglobine du sang en plus, pour la lèvre.

Il est donc possible désormais de mesurer la vascularisation et l'hyperhémie relative des surfaces cutanées ou muqueuses, avec l'analyseur chromatique.

Chez la plupart des animaux, il est facile de faire l'examen du sang dans les tissus vivants, en choisissant les parties glabres ou peu colorées, ou les muqueuses ; c'est ainsi que chez un lapin, j'ai trouvé le chiffre 8 à la face interne de l'oreille et 12 à la face interne des lèvres, des paupières et aux narines. Or, cet animal avait 10 % d'oxyhémoglobine dans le sang, c'est-à-dire la moyenne entre les deux examens. Chez des cobayes, c'est à la plante du pied, à l'oreille, par transparence, que j'ai trouvé des chiffres analogues, c'est-à-dire le chiffre indiquant la quantité d'oxyhémoglobine du sang.

De même, pour le rat albinos, le chien, le

porc, le mouton, le cheval et le bœuf, il sera loisible de choisir soit les lèvres, la paupière ou l'oreille, mais il sera nécessaire d'établir pour ces animaux une échelle de concordance avec les chiffres des verres chromatiques, et c'est un travail que j'ai commencé.

Applications à la physiologie et à la pathologie. — Les observations précédentes montrent quelles sont les applications immédiates de mon procédé à la physiologie, pour étudier, non seulement dans les téguments, mais aussi dans les organes internes, les phénomènes spectroscopiques, en vue d'obtenir des notions comparatives sur les effets des sécrétions, des contractions, des excitants et des agents toxiques, sur les muscles, les vaisseaux et le cœur. Les expérimentateurs qui, jusqu'à présent, ont utilisé le spectroscope, et je suis du nombre, pour analyser les modifications du sang dans les vaisseaux mis à découvert, ne pouvaient faire qu'une analyse qualitative très approximative ; l'analyseur chromatique fournira des résultats beaucoup plus précis. Au point de vue pathologique, l'étude des érythèmes congestifs, exanthématiques, ou des éruptions spécifiques et diathésiques offre un vaste champ d'observation.

Dans la cyanose, l'analyseur chromatique, combiné avec l'examen hématoscopique, m'a permis d'apprécier la quantité d'hémoglobine réduite par rapport à la quantité d'oxyhémoglobine contenue dans le sang de plusieurs individus atteints de maladie bleue. Enfin, il m'a permis de suivre dans le service du Dr Labadie-Lagrave, avec son interne M. Potel, chez des enfants nés avant terme et débiles, l'action des aspirations d'effluves d'ozone, sans être obligé de répéter des piqûres pour extraire les quelques gouttes de sang nécessaires pour remplir l'hématoscope.

Étude des téguments pendant la vie. — Chez la plupart des animaux supérieurs, l'étude des téguments présente principalement des particularités dans la vascularisation des tissus qui les constituent et qui doit être étudiée, soit dans les parties vivement colorées, soit dans les parties transparentes. C'est ainsi que, chez les vertébrés, Corrado a appliqué l'examen spectroscopique direct de la crête des gallinacés à des recherches intéressantes sur l'action des divers empoisonnements, par l'acide carbonique, l'oxyde de carbone et l'hydrogène sulfureux. Pareilles recherches peuvent être faites chez le dindon, et en général, chez les oiseaux qui présentent des

parties cutanées érectiles et bien vascularisées. Chez les autres vertébrés, on peut utiliser les parties peu épaisses et transparentes, dans les recherches physiologiques ; parmi les mammifères : l'aile de la chauve-souris, l'oreille des rats blancs albinos, la langue et la membrane natatoire de la grenouille (1), la queue des tritons, les larves des batraciens ; chez l'axolotlalbinos, on peut suivre les variations de la coloration de la peau et des branchies, de la queue, qui peuvent donner, avec l'analyseur chromatique,des différences de 6 à 12 $^0/_0$ suivant, diverses conditions d'anémie, ou d'hyperhémie cutanée.

Chez les poissons, on peut examiner par transparence la queue, les nageoires, et directement les branchies, en conservant l'animal immobile et en l'isolant dans des cuves très étroites, ou même dans un aquarium peu large, entre deux lames de verre. On peut varier facilement ces dispositifs pour pouvoir examiner au spectroscope et même au microspectroscope aussi facilement qu'avec la loupe ou le microscope ; dans ces cas, on choisira les poissons les plus transparents, ou même les poissons en voie de dé-

(1) G. Corrado. — *Spettroscopia del tissi vivi e morti.* E. Detken, Napoli, 1892. Estratto del Giornale Interna delle Scienze mediche, anno XIV.

veloppement, les alvins, et l'on pourra étudier l'action des substances qui agissent plus particulièrement sur le sang.

Des études analogues sont faciles à faire sur certains insectes, les larves de chironomus en particulier, les daphnies, les cyclops, les apus, et parmi les annélides, les lombrics, les néréides, et en général tous les animaux inférieurs qui présentent de l'hémoglobine dans leur hémolymphe (Chap. V, p. 91).

L'examen spectroscopique des téguments comporte encore l'analyse de la coloration de ces tissus, en d'autres termes l'analyse des pigments. Il y a certainement intérêt à isoler les pigments des tissus, à en rechercher les caractères chimiques et spectroscopiques, à établir leur rôle physiologique et leurs relations réciproques ; mais il est nécessaire aussi de les rechercher sur le vivant, pour en mieux comprendre les modifications.

L'étude la plus complète, et je puis dire la seule qui envisage, dans son ensemble, les colorations des téguments et des tissus, a été faite par Krukenberg [3].

---

(1) KRUKENBERG. — *Grundzuge einer Vergleichenden Physiologie der Farbstoff und der Farben*, Heidelberg, Carl Winter, 1884.

Ce travail est indispensable à consulter pour quiconque voudrait poursuivre des recherches analogues, ou même simplement compulser la bibliographie des documents déjà très nombreux qui s'y rapportent. Je me contenterai de signaler les deux principales divisions de l'étude des colorations des téguments et des tissus. Les unes sont *objectives*, c'est-à-dire qu'elles sont dues à des particularités de structure des tissus qui modifient, à la fois, les radiations lumineuses transmises de la superficie des tissus à leur profondeur et celles qui sont réfléchies de la couche profonde pigmentée des tissus. Ainsi que le dit Brucke, l'examen microscopique d'un iris bleu offre simplement un tissu transparent reposant sur une couche pigmentaire, et ce tissu transparent, comme d'autres corps, jouit de la propriété de laisser passer les radiations d'une grande longueur d'onde, en même temps qu'il réfléchit les radiations d'une plus courte longueur d'onde.

Le type des colorations objectives est la couleur blanche, celle des cheveux blancs, des plumes blanches, des écailles argentées du poissons, l'aspect argenté métallique des téguments des insectes aquatiques, du ventre des hydrophiles, des dytiques, des hydromètres ou araignées d'eau.

Dans ces cas, la coloration est produite par des corps opaques contenus dans les cellules des tissus, dans les chromatophores, comme dans les écailles des poissons, ou par la présence de bulles d'air, soit à l'intérieur des éléments anatomiques (cheveux, poils blancs), soit à la surface même des tissus (insectes aquatiques). Les colorations objectives se présentent souvent dans la série animale ; telle est, chez l'homme, la coloration bleue de l'iris des veines vues à travers la peau, des ongles dans la cyanose ou après la mort, des tatouages faits avec la poudre ou l'encre de Chine ; et, chez les animaux, le museau du mandril, les parties colorées de la peau du casoar et la pintade, et les plumes d'un certain nombre d'oiseaux, les pittacides en particulier.

Il est important de connaître ces phénomènes et de savoir qu'un grand nombre de colorations bleues ou vertes sont dues à des phénomènes de réflexion ou de réfraction de la lumière dans les éléments des tissus avant d'arriver à la couche pigmentaire noire ou jaune sous-jacente. Les plumes des oiseaux mettent en évidence les variations si remarquables de la couleur, indépendantes du pigment, qui présentent une relation directe avec la finesse, le nombre des stries des éléments des plumes et peuvent produire

une teinte jaune ou verte, ainsi que l'a démontré Gadow.

Les colorations dorées, nacrées ou verdâtres de la peau des caméléons, des lézards, des rainettes ; la coloration violette de l'écaille de la moule comestible seraient un phénomène de même ordre, suivant Krukenberg. Mais nous devons dire que G. Pouchet a exposé une théorie différente, celle qui consiste à admettre que certains tissus possèdent une propriété spéciale, la coloration bleue, indépendante de toute structure anatomique, la cérulescence, phénomène qui doit être rapproché du dichroïsme, ou de la fluorescence [1].

Les colorations, dites *subjectives*, forment deux groupes distincts : celles qui sont produites par des phénomènes d'interférences, et celles qui dérivent de la dispersion prismatique.

Les couleurs d'interférence sont produites par des dispositions des éléments des tissus qui forment, d'une manière générale, de fines stries, analogues aux divisions des réseaux. Tantôt ce sont de fines stries ou des lamelles alternative-

---

[1] G. Pouchet. — *Changement de coloration sous l'influence des nerfs.* Journal de l'Anatomie et de la Physiologie, 1876-1877.

ment minces et épaisses, et aussi des membranes avec interposition d'espaces renfermant de l'air. Les couleurs si vives de la perle ou de la nacre sont dues à la présence de couches successives que le polissage met en lumière.

Les couleurs d'irisation sont bien dues à cette disposition de stries et de sillons, car la perle et la nacre, plongées dans l'encre, conservent leurs propriétés d'interférence. Les couleurs d'interférence ont un vif éclat métallique, ainsi qu'on peut le constater dans les écailles des serpents, les ailes de papillons. Les élytres de certains coléoptères, en particulier chez les curculionides, les hoplies farineuses et divers scarabés doivent leurs brillantes couleurs à la présence de fines stries.

De même, chez certains oiseaux-mouches, les reflets métalliques sont en rapport avec la texture des plus fines divisions des plumes.

On retrouve les couleurs d'interférence chez les annélides, lombrics, néréides, et chez les céphalopodes, le poulpe, la sépia. La caractéristique des couleurs dues à l'interférence est de ne pas être modifiée à l'examen spectroscopique direct, c'est-à-dire à la lumière incidente ; les tissus examinés par transparence ne sont pas colorés, ou présentent une coloration pigmentaire qui n'a

pas de rapport avec les colorations perçues à la lumière incidente et à l'œil nu.

Ces notions succinctes montrent qu'il est d'autant plus important de tenir compte de la structure des téguments, c'est-à-dire d'associer l'étude microscopique à l'observation spectroscopique, que les phénomènes d'interférence se combinent souvent avec les spectres d'absorption, dans l'examen des téguments.

Les colorations pigmentaires proprement dites sont les plus importantes pour l'observation spectroscopique, soit à la lumière directe, soit par transparence, et chez un grand nombre d'animaux on peut observer directement dans le tégument les caractères spectroscopiques des pigments qui les colorent ; il est donc indispensable, dans l'étude des colorations tégumentaires, de comparer entre elles les notions que donne l'examen spectroscopique du tissu avec celles qui caractérisent le pigment isolé, ce qui sera fait dans l'étude des pigments.

Les colorations tégumentaires, qui intéressent le plus spécialement la spectroscopie biologique, sont dues à des substances pigmentaires renfermées dans les couches superficielles du derme, ou d'une façon générale dans le chorion muqueux ; dans des cellules particulières dites

chromatoblastes ou chromatophores ; nous montrerons que, malgré leur diversité, elles peuvent être rapportés à un certain nombre de groupes déterminés.

Il faut rapprocher de l'examen spectroscopique des téguments celui des muqueuses et des cavités accessibles ; jusqu'à présent, chez les animaux supérieurs, en dehors de la cavité buccale, on n'a pas fait d'observations spectroscopiques intéressantes, et encore l'on n'y a constaté que le spectre de l'hémoglobine.

L'examen spectroscopique du larynx n'a pas encore été pratiqué avec des résultats méritant d'être signalés, et celui de l'oreille a été borné au conduit auditif externe ; l'image de la muqueuse vésicale ou uréthrale, produite par l'uréthroscope, n'a pas été étudiée au spectroscope, mais il est à prévoir que l'on pourra trouver le dispositif et surtout l'éclairage nécessaire pour pouvoir pratiquer ces recherches, dont l'utilité semblerait consister surtout dans l'étude de l'hyperhémie ou de l'anémie des surfaces muqueuses de ces cavités. Les essais d'examen spectroscopique de l'œil que j'ai exécutés ont donné plusieurs résultats intéressants à connaître.

CHAPITRE II

SPECTROSCOPIE DE L'ŒIL

L'examen spectroscopique de l'œil peut être pratiqué sur l'homme et un grand nombre d'animaux.

Les observations peuvent être faites avec un dispositif très simple que j'ai présenté dès l'année 1891 à la Société de Physique, et qui a été exécuté par Lutz.

Il faut, pour observer les parties profondes de l'organe, combiner l'examen ophtalmoscopique avec l'examen spectroscopique.

La *fig.* 5 montre le premier ophtalmospectroscope que j'ai établi.

Un petit spectroscope à vision directe est fixé par une tige T portant une double articulation en genou, sur la tige d'un miroir ophtalmoscopique ordinaire O. La disposition de ces articulations permet de manœuvrer le spectroscope en tous sens derrière le miroir et d'amener la

fente sur l'orifice central. On peut alors, en éclairant par le miroir les diverses parties de l'œil, examiner successivement la surface cutanée et la muqueuse des paupières, puis la conjonctive,

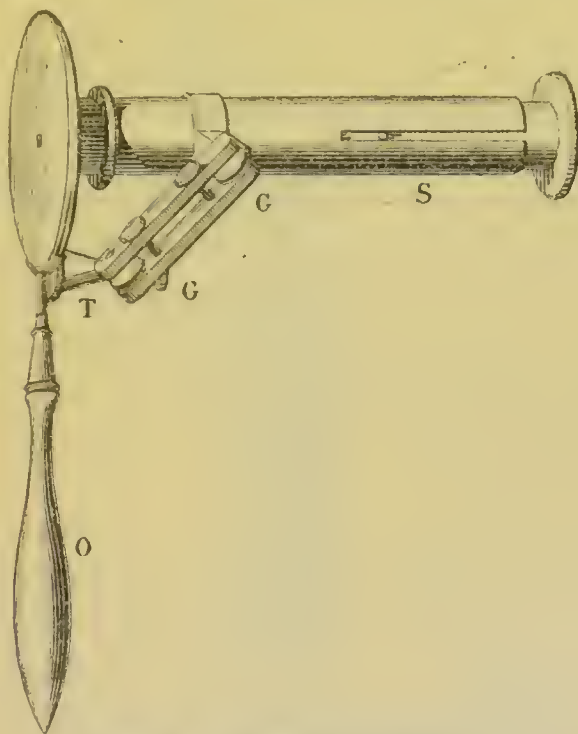


Fig. 5. — Ophtalmospectroscope.

la sclérotique et l'iris, enfin l'image du fond de l'œil, de la rétine et de ses vaisseaux. Cet examen ne présente de difficultés que pour le fond de l'œil ; en effet, tandis qu'on éclaire facilement la conjonctive, l'iris, il est plus difficile d'obte-

nir pour la rétine un éclairage suffisant. Il faut pour cela choisir des malades pouvant supporter une forte lumière, par exemple, la lumière électrique, incandescente, et chez lesquels l'œil a été dilaté par l'atropine, ainsi que j'ai pu le pratiquer à la clinique du Dr de Wecker en 1890.

Il est, en outre, assez difficile de déterminer le point exact de l'œil qui correspond à la fente du spectroscope, et pour obvier à cet inconvénient j'ai perfectionné l'ophtalmospectroscope. Ainsi qu'on le voit dans la *fig.* 6, une colonne verticale fixée sur un pied supporte une tige horizontale, sur laquelle sont placés le miroir et la lentille ophtalmoscopiques pouvant être rapprochés ou écartés l'un de l'autre, au moyen d'une vis à crémaillère.

Le spectroscope est fixé sur cette même tige horizontale, mais de façon à pouvoir être placé en face de l'orifice du miroir ou bien à être rabattu de côté. — Pour se servir de l'appareil, on cherche d'abord la position de l'image du fond de l'œil avec la partie ophtalmoscopique, et alors on amène le spectroscope au niveau de l'orifice du miroir. Un point d'arrêt permet de placer immédiatement la fente sur l'orifice du miroir.

Chez les animaux, on fait l'examen à la lu-

mière solaire ou avec l'éclairage d'une lampe à pétrole ou d'une bougie, même si l'on choisit des animaux albinos tels que les lapins, et de

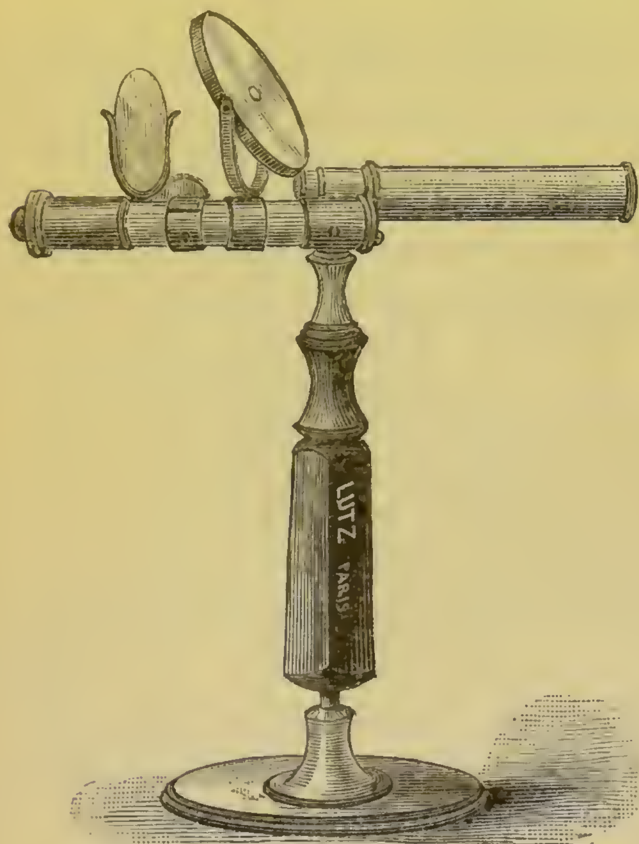


Fig. 6. — Ophtalmospectroscope perfectionné.

préférence des cobayes albinos ou même des cobayes pigmentés, qui, grâce à la dilatation naturelle de leur pupille et aussi à leur docilité, sont très faciles à examiner à l'ophtalmoscope. J'ai

pu même chez l'axolotlalbinos constater les deux bandes de l'oxyhémoglobine par l'examen ophtalmospectroscopique du fond de l'œil à la lumière solaire.

Quel que soit l'appareil employé, en procédant lentement et progressivement, on perçoit à la surface cutanée de la paupière la première bande de l'oxyhémoglobine ; les deux bandes α et β sont plus nettement observées à la surface conjonctivale des paupières, mais au niveau de la sclérotique, les bandes de l'oxyhémoglobine ne sont perceptibles que dans le cas de vascularisation intense, ou d'hyperhémie ; on peut encore distinguer les deux bandes de l'oxyhémoglobine dans l'iris, lorsque la dilatation n'est pas très considérable ; enfin on retrouve dans le fond de l'œil les deux bandes de l'oxyhémoglobine dues aux vaisseaux de la rétine et de la choroïde. Tels sont les premiers résultats que j'ai obtenus, je crois pouvoir espérer qu'ils donneront lieu à des applications à l'étude des hémorrhagies dans ces membranes. C'est ainsi que le diagnostic de la cataracte noire pourrait se faire à l'aide de l'examen spectroscopique. En effet, j'ai montré dans une analyse microspectroscopique d'une cataracte noire, que la coloration était due à de l'hématine réduite qui présente une grande ana-

logie avec la mélanine, mais diffère de la coloration pigmentaire de la choroïde et de l'uvée [1].

Chez l'animal mort, on ne trouve dans toutes ces parties constituantes de l'appareil de la vision que la bande unique, caractéristique de l'hémoglobine réduite, ce qui est un signe de la mort certaine à ajouter à celui de l'examen spectroscopique du sang ; en effet, à la face conjonctivale, de la paupière la réduction de l'oxyhémoglobine est très facile à observer, même avec le spectroscope à vision directe.

L'examen spectroscopique de l'œil serait aisé à pratiquer chez le bœuf, le cheval et, fût-il borné à la sclérotique, à la conjonctive, il aurait une valeur séméiologique, il permettrait d'ailleurs, au moyen de l'analyseur chromatique, de déterminer la richesse du sang en oxyhémoglobine.

Il existe dans l'œil des pigments qu'on ne peut reconnaître, pendant la vie, à l'aide du spectroscope, mais qui sont liés directement aux phénomènes physiologiques et physiques de la vision. Tels sont les pigments de l'uvée, de la choroïde,

---

(1) GILLET DE GRANDMONT. — *Observation de cataracte noire. Extraction. Analyse spectroscopique*, par le Dr HÉNOCQUE. Archives d'Ophtalmologie, 2-13, no 5, p. 272, mai 1893, 2 pl.

dont la fonction est plutôt d'ordre physique, car ils représentent l'écran noir qui absorbe les rayons lumineux et se rapportent au groupe des pigments noirs, ou mélaniques. La rétine présente une coloration particulière rouge, qui n'est appréciable que chez les individus albinos, mais qu'on peut isoler dans l'œil fraîchement enlevé de divers animaux la grenouille en particulier. Le pigment qui en est l'origine et qui a été désigné sous les noms de *Pourpre Rétinien*, *Rhodopsine*, *Sehpurpur*, *Erythropsine*, a été l'objet, de la part de Kuhne et de ses élèves, de remarquables travaux qui ont la plus haute importance pour la physiologie de la perception des couleurs et des objets lumineux.

C'est Boll (1) qui, le premier, en 1876, constata que la coloration rouge de la rétine, chez l'animal vivant, s'affaiblit sous l'influence de la lumière pour réapparaître par le séjour dans l'obscurité, mais disparaît après la mort. Kuhne a démontré que les réactions et les propriétés du pigment rétinien peuvent être observées dans

(1) Boll. — *Monat. der Berlin. Acad.* 12 nov. 1876, Kuhne, Ewald, Ayres, Mays et d'autres élèves de Kuhne ont publié leurs nombreux travaux sur le sujet dans les vol. I et II des *Untersuch. aus des physiol. Institute zu Heidelberg*, 1877, 1878.

la lumière monochromatique jaune qui agit très peu sur le pourpre rétinien. Il a le premier déterminé que ce pigment siège exclusivement dans la couche externe des bâtonnets, et qu'il manque, dans les cônes et les bâtonnets, au voisinage de la tache blanche et de l'*ora serrata*.

La rhodopsine manque chez les animaux dont la rétine ne possède pas de bâtonnets. De plus, chez certaines chauve-souris, comme aussi chez les poules, les pigeons, et les lapins nouveau-nés, les bâtonnets ne renferment pas ce pigment. Pour isoler la rhodopsine, il faut choisir de préférence les yeux des grenouilles, parce qu'il est plus facile d'en faire disparaître le sang. Il faut opérer sous l'éclairage monochromatique jaune ; on dissout la matière colorante avec une solution aqueuse de 2 à 5 % de bile de bœuf cristallisée (1). Cet extrait offre une coloration rouge, purpurine, claire et non phosphorescente ; desséchée dans le vide, elle a l'aspect d'une poudre semblable au carmin ammoniacal. Pour isoler

---

(1) Kuhne a récemment perfectionné ce procédé en ajoutant à la solution extraite par la bile du sulfate de magnésie en solution saturée, laquelle dissout ce qui peut rester d'hémoglobine ; puis l'on reprend le pigment rétinien par la solution biliaire. (KUHNE. — *Zeitschrift f. Biologie*, 32, p. 21-28).

le pigment, on le redissout dans une solution de bile cristallisée et on le recueille définitivement par la dialyse ; il reste sur la membrane, sous forme d'une poudre amorphe violette.

Les rayons lumineux agissent diversement sur la rhodopsine ; la lumière blanche est la plus active pour la transformer d'abord en couleur jaune (Sehgelb, jaune de la rétine), et enfin la décolorer. Les rayons verts, bleus, ont une activité moindre, et enfin viennent, par ordre de puissance décolorante, les rayons jaunes, violets orangés et rouges. Avec la lumière monochromatique jaune, il faut deux heures d'exposition pour décolorer la rhodopsine.

Les réactions spectroscopiques diffèrent pour la rhodopsine et son premier stade de transformation le *jaune rétinien* (Sehgelb), mais ni l'une ni l'autre de ces deux colorations ne présente, à l'examen spectroscopique des bandes caractéristiques, elles n'offrent qu'une absorption continue qui, pour le pourpre rétinien, commence à C, s'augmente très lentement jusqu'à D, devient très prononcée vers 550 λ et atteint son maximum de E à *b*, puis F. L'absorption se continue de F à *b*, pour diminuer rapidement vers *h* et devenir presque nulle à 400 λ.

Le *jaune rétinien* présente une absorption

continue depuis la moitié de l'espace *b* F, c'est-à-dire 300 λ, atteignant son maximum de F à *h* et se continuant au delà dans le violet.

La propriété la plus remarquable de ce pigment est certainement sa sensibilité spéciale à la lumière, et Kuhne a cherché à démontrer, par des expériences fort curieuses, que la lumière agit sur le pourpre rétinien pendant la vie, impressionnant la couche pigmentée de la rétine à la façon d'une plaque photographique.

Les expériences ont été faites chez des lapins; l'animal étant maintenu quelque temps dans une chambre noire, était brusquement impressionné par des rayons lumineux provenant d'une fenêtre, ou fente de forme variable ; il était alors décapité, et l'œil extrait immédiatement, placé dans une solution d'alun, qui fixait la rhodopsine.

Le lendemain, on trouvait à la surface de la rétine, dans l'étendue d'un quart de millimètre, une surface décolorée affectant la forme et l'aspect de la fenêtre de la chambre noire. Ces images ont été désignées sous le nom d'*optogrammes*, elles se conservent longtemps si l'on dessèche la rétine dans le vide.

La régénération de la rhodopsine est un phé

nomène qui se représente d'une façon continue lorsque la rétine impressionnée par la lumière est exposée à l'obscurité. Cette régénération paraît dépendre de l'action des cellules hexagonales pigmentées de la rétine, qui envoient entre les bâtonnets leurs prolongements, et peut-être facilitent la transformation du pigment jaune ou pourpre rétinien décoloré, en rhodopsine, ou pourpre rétinien. Mais on sait que le pigment noir de la choroïde (mélanine ou fuscine) n'est pas la cause même de la coloration puisque, sur des rétines dont quelques petites portions de la couche pigmentaire ont été enlevées, on n'a pu observer encore la régénération. Le rôle de la rhodopsine n'est lui-même pas encore déterminé. Dans l'enthousiasme des premiers moments de la découverte l'on a proposé l'hypothèse séduisante qui considérait la rétine comme une plaque photographique dont la surface était rendue impressionnable par le pourpre rétinien, sur lequel venaient se former les images des corps extérieurs, images disparaissant pendant la vie, grâce au renouvellement constant de ce pigment, mais que l'on pouvait retrouver dans certaines conditions après la mort. Malheureusement, la vision se produit parfaitement chez des animaux, tels que certaines chauve-souris, le hibou, les

reptiles, etc., dont la rétine ne contient pas de rhodopsine.

Il faut donc reconnaître que nous ne connaissons pas la nature des transformations chimiques ou physiologiques de ce pigment ; peut-être seraient-elles une propriété commune à un certain nombre de lipochromes, et en particulier au pigment jaune des cônes de la rétine décrit sous le nom de chromophane, mais le rôle de cette propriété est encore moins déterminé que cette propriété elle-même, bien que les travaux plus récents de Charpentier, Parinaud, de Dor, de Pergens et Heger [1], sur l'action que les divers rayons spectroscopiques produisent sur certaines partie de la rétine, aient apporté de nouvelles constatations des modifications de la distribution des pigments dans les éléments de la rétine ; mais nous ne pouvons ici que signaler ces travaux. Il en est de même des applications de la spec-

---

[1] Dor — *Réaction chimique des noyaux des cônes et des noyaux des bâtonnets dans les rétines exposées à des radiations colorées.* Annales d'Oculistique, juin 1896, p. 443.

Charpentier. — *Nouvelles recherches sur les oscillations rétiniennes.* Archiv. de Phys. t. VIII, p. 677.

Heger, Pergens. — *Action de la lumière sur les éléments de la rétine.* Comptes-rendus de l'Académie de Médecine de Belgique, 29 février, 28 novembre 1896.

troscopie à l'étude des verres colorés employés dans la construction des lunettes ou lorgnons.

Boehm a étudié avec soin les réactions spectroscopiques des verres bleus, j'ai moi-même établi le spectre des verres de Fieuzal, verres jaunes enfumés dont la description et la figure ont été publiées dans les *Bulletins de la Clinique ophtalmologique des Quinze-Vingts*, 1885, t. III.

Ajoutons que Rosenberg, dès 1876, a signalé l'emploi du spectroscope pour l'étude de la cécité plus ou moins partielle des couleurs et de leurs combinaisons.

Chez les animaux inférieurs, les crustacés, les insectes, l'œil présente des colorations diverses d'origine pigmentaire, dont l'étude n'a pas été faite avec une rigueur suffisante.

On a indiqué, par exemple, dans plusieurs publications, l'existence de l'hémoglobine dans l'œil de la mouche, ce qui est une erreur, car en examinant le pigment d'un nombre considérable de mouches (plus de 500), je n'y ai retrouvé aucune des réactions caractéristiques de l'hémoglobine ; mais, au contraire, j'ai pu constater deux pigments distincts se rapportant aux lipochromes. l'un de coloration jaune, l'autre

ayant une coloration carminée, très stable, se conservant sur le papier filtre et présentant un spectre différent de celui de l'hémoglobine (1).

---

(1) Pour se procurer un grand nombre de mouches le moyen le plus simple est de laisser des asticots se transformer en nymphes, dans une boîte garnie de toile métallique ; aussitôt après l'éclosion, on tue les mouches au moyen du chloroforme, et l'on sépare les têtes qui sont pilées dans un mortier.

CHAPITRE III

SPECTROSCOPIE DES ORGANES ET TISSUS MIS A DÉCOUVERT

Spectroscopie des viscères. — Chez l'animal vivant, la plupart des viscères lorsqu'ils sont mis à nu, soit accidentellement, soit dans une opération ou une vivisection, présentent, à l'examen spectroscopique, les deux bandes de l'oxyhémoglobine ; on les retrouve chez les mammifères, les oiseaux, à la surface des organes, plus ou moins intenses suivant le degré de vascularisation. Les poumons les présentent au plus haut degré, mais les parois de l'estomac, la surface des glandes, de l'intestin, parotides, pancréas, testicules, ovaires, thyroïde, mésentère, enfin les muqueuses, le cerveau, la moelle, tous ces organes ne semblent avoir d'autre caractéristique spectroscopique que la présence des bandes de l'oxyhémoglobine. D'autres viscères, tels que le foie, la rate, les vésicules ova-

riques, les capsules surrénales offrent, en outre des réactions spectroscopiques spéciales dues à des produits de sécrétion ou à des pigments; il en est de même pour les muscles, et l'importance des recherches faites sur la coloration musculaire m'obligent à entrer dans quelques détails sur ce sujet.

Spectroscopie des muscles striés. — La circulation des muscles est très active ; les capillaires, très nombreux et de volume très fin, entourent chaque fibre au nombre de deux ou trois, les muscles renferment une grande quantité d'oxyhémoglobine par rapport aux autres organes ; les cendres des muscles contiennent d'ailleurs 3, 15 $^0/_0$ de fer (Keller) ; or, les cendres du sang ne contiennent pas plus de 8 à 9 $^0/_0$ de fer. La quantité d'hémoglobine contenue dans les muscles est donc considérable ; elle représente 29 $^0/_0$ de la quantité totale contenue dans le sang, ce qui explique l'activité des combustions dans le tissu musculaire. Elle est évidemment aussi l'origine principale de la coloration rouge des muscles.

L'examen spectroscopique direct des muscles mis à nu montre facilement la présence des deux bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine, de

même qu'après la mort, on trouve encore la bande unique de l'hémoglobine réduite, alors même que le muscle a macéré plusieurs jours dans l'eau. Ce phénomène peut être constaté chez tous les vertébrés et même chez les annélides à sang rouge.

Pour démontrer l'influence de l'oxygénation de l'hémoglobine sur la coloration des muscles, à l'aide de l'examen spectroscopique, on pourra répéter l'expérience très simple que j'ai faite avec le Dr Tripet au laboratoire de physique biologique du Collège de France (décembre 1896).

Un lapin étant fixé sur l'appareil contentif, les muscles de la cuisse sont mis à nu, et examinés d'abord avec l'analyseur chromatique; puis on galvanise avec l'appareil électro-faradique un ou plusieurs de ces muscles; en même temps, on les examine avec le spectroscope à vision directe. Le muscle doit être amené à l'état de contraction tétanique. Or, avant la contraction, l'on constate facilement les bandes de l'oxyhémoglobine, mais pendant la contraction, le muscle présente une coloration plus sombre et, au bout de quelques secondes, le spectroscope fait reconnaître la bande de l'hémoglobine, réduite. La contraction a donc amené ici le phénomène de réduction analogue à celui qu'on observe à

l'ongle du pouce ligaturé. On sait d'ailleurs que Claude Bernard avait observé que le sang qui sort des muscles prend la coloration du sang veineux pendant la contraction musculaire. L'examen spectroscopique du muscle en contraction nous a fait constater, de plus, une différence dans la durée de la réduction du sang, pour les muscles rouges et les muscles blancs.

En effet, chez le lapin, dans le muscle rouge semi-membraneux, la durée de la réduction, sous l'influence de la contraction tétanique, a été de quatorze secondes, en moyenne, tandis que dans les muscles blancs de la cuisse, adducteurs et triceps crural, elle variait entre quatre et cinq secondes, huit à dix secondes au plus, et quatorze secondes exceptionnellement. D'autre part, le muscle rouge présentait à l'analyse spectroscopique 14 $^0/_0$, les muscles blancs 13 $^0/_0$.

Cette expérience permet de conclure que la réserve d'oxyhémoglobine est plus grande dans les muscles rouges que dans les muscles blancs, déduction en rapport avec la distribution vasculaire dans les muscles rouges, qui a été décrite par Ranvier (1).

---

(1) RANVIER. — *Note sur les vaisseaux sanguins et la circulation dans les muscles rouges.* Archiv. de Physiologie norm. et path., 1874, nos 4 et 5, p. 449.

En dehors de la constatation anatomique des dilatations vasculaires dans lesquelles le sang peut s'accumuler entre les faisceaux musculaires, l'importance de ces réserves peut être démontrée par une autre expérience spectroscopique. En effet, examinant au microspectroscope un muscle rouge de lapin dont les vaisseaux sanguins avaient été lavés aussi complètement que possible, Ranvier a vu les bandes d'absorption de l'oxyhémoglobine qu'il n'a pu constater dans les muscles blancs.

Il faut donc admettre que la coloration rouge des muscles est principalement due à la présence de l'hémoglobine ; mais plusieurs auteurs ont soutenu que l'hémoglobine contenue dans le muscle pouvait provenir, non seulement du sang, mais aussi des fibres musculaires elles-mêmes, imprégnées d'hémoglobine qui serait partie constituante de leur protoplasma, et varierait en quantité suivant les périodes de repos ou de contraction. L'un des principaux arguments en faveur de cette opinion est que Kuhne a pu extraire des cristaux d'hémine du suc musculaire des rongeurs et d'autres animaux ; mais Zalewski a montré que si le muscle est complètement privé de sang, il ne contient plus de fer, par conséquent pas d'hémoglobine.

Myohématine. — En dehors de la coloration due à l'hémoglobine, les muscles renferment un pigment spécial que Mac-Munn a découvert et décrit sous le nom de myohématine et, qui, jusqu'à présent, n'a été caractérisé que par ses réactions spectroscopiques. Suivant cet auteur, la myohématine serait une des formes d'un pigment, analogue à l'hémoglobine, qu'il appelle histohématine, parce qu'il est répandu dans un grand nombre de tissus des animaux inférieurs, et représente un pigment respiratoire se modifiant sous l'influence de l'oxygène, quel que soit le mode d'introduction de cet élément dans les tissus [1].

La *fig.* 7 reproduit, d'après Mac-Munn mais rapportées à notre échelle habituelle, les bandes caractéristiques du spectre de la myohématine :

I. Spectre de la myohématine acide ;

II. Spectre de la myohématine réduite.

Le premier spectre (I) montre quatre bandes d'absorption : La première assez faible entre

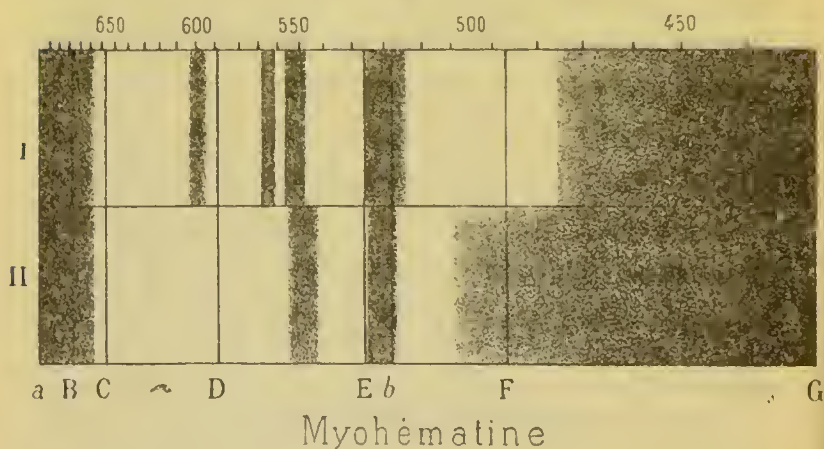
---

(1) MAC-MUNN. — *Myohæmatine, and the histohæmatine. Philosophical Transact. of Royal Society.* Part. I, 1886 et Journal of Physiologie, VIII, n° 2, 1887.

HOPPE-SEYLER (*Zeitsch. f. Phys. Chemie.* XIII), considère la myohématine comme une substance analogue à l'hémochromogène.

λ 613 et 600, c'est-à-dire dans le rouge oranger à gauche de la raie D ; la seconde entre λ 569 et 563, dans le jaune verdâtre à droite de D, plus faible encore que la précédente ; la troisième

Fig. 7



entre λ 556 et 550 dans le jaune vert, la plus foncée et la plus nette ; et la quatrième formant une bande sombre entre E et *b* qu'elle dépasse un peu. Enfin le spectre est obscurci à droite de F à partir de λ 480.

La myohématine réduite, c'est-à-dire modifiée par les réducteurs ou par la digestion artificielle (spectre II), ne présente que deux bandes principales, la plus intense située entre D et E dans le jaune vert de λ 554,5 à 548, et la seconde couvrant la plage verte de E à

b λ 524,5 à 519 ; en plus, l'obscurité du spectre commence à 500 λ dans le vert bleu à peu près au milieu de la plage *b* à F.

Il m'a souvent semblé possible de constater un éclaircissement dans ce spectre, à droite de F, ce qui constituerait une troisième bande étendue de 500 à 480 λ, bande d'ailleurs moins intense que les deux précédentes.

Ces spectres ressemblent beaucoup à celui de l'hématine réduite ou hémochromogène, c'est pourquoi Hoppe Seyler a soutenu l'opinion que la myohématine serait analogue, sinon identique, à l'hémochromogène.

L'analyse chimique aurait pu résoudre la question, en montrant que la myohématine ne contient pas de fer, mais jusqu'à présent ces délicates recherches n'ont pas été faites, et c'est seulement d'une façon indirecte que nous savons qu'il n'y a que des traces de fer dans les muscles longuement lavés et privés de sang. En effet, dans des muscles tels que le cœur, privé de sang, on peut retrouver la myohématine, soit en l'extrayant par une macération dans l'éther sulfurique pendant plusieurs jours, soit en examinant des coupes de divers muscles du cœur, chez des animaux hydrotomisés, ainsi que j'ai pu le faire chez les cobayes, le pigeon, suivant les

méthodes indiquées par Mac-Munn. L'examen direct des muscles desséchés après avoir longuement macéré (muscles de bœuf, de mouton, de porc), révèle la myohématine, il en est de même de coupes pratiquées sur des cœurs de divers animaux ayant été rendus translucides par la glycérine. On peut ainsi faire des préparations, et les conserver dans des tubes ou dans de la glycérine Jelly.

Le cœur du pigeon est particulièrement riche en myohématine (Mac-Munn). Celle-ci existe dans les muscles des mammifères, des autres vertébrés, et chez certains invertébrés, crustacés, mollusques, insectes (Mac-Munn, Lancaster). Je l'ai constatée facilement, chez l'hydrophile, chez le lucane-cervolant, qui ne renferment pas d'hémoglobine, et dont les grosses masses musculaires du thorax sont très favorables à ces recherches.

Copeman, en 1890, a indiqué un mode de préparation de la myohématine, fort intéressant au point de vue de la théorie de ce pigment. Il a, en effet, montré à la Société de Physique de Londres des spécimens de myohématine obtenue en traitant du sang défibriné et légèrement dilué par une petite partie de tissu musculaire maintenue à l'abri de l'air à une température de

36° C, pendant trois semaines. Il a constaté le spectre figuré par Mac-Munn, avec une légère différence sur la fin du violet. Il ressemble au spectre de l'hémochromogène et de l'hémato-porphyrine neutre ; mais il s'en distingue par les réactifs, car, en chauffant près de l'ébullition, les bandes disparaissent ; mais elles redeviennent visibles en refroidissant, comme l'a vu Halliburton dans la myohématine réduite de Mac-Munn.

Il faut insister sur ce point que la même expérience fut faite avec du tissu hépatique ; or, il se forma de l'hématine alcaline et non de l'histohématine.

En résumé, la myohématine est un pigment musculaire ayant un spectre caractéristique, modifiable suivant des conditions déterminées, d'ordre chimique ou thermique ; c'est en outre un spectre réversible, il présente donc les conditions que nous avons indiquées dans notre introduction, pour la caractéristique spectroscopique d'une substance d'origine biologique.

Spectroscopie des muscles lisses. — Il n'a été fait qu'un nombre bien restreint de recherches sur le spectre des muscles lisses.

Cependant, Gœbel [1] a trouvé, dans les muscles lisses de l'intestin de l'homme, un pigment qui se montre surtout depuis l'âge de dix-huit ans et augmente suivant la progression de l'âge, et qui n'a manqué que quatre fois dans cent cas examinés. Ce pigment serait apporté à l'état soluble aux fibres musculaires lisses qui le transformeraient en dépôts granuleux ou corpuscules. Il est d'ailleurs démontré que l'activité respiratoire est développée dans les muscles lisses qui contiennent une petite quantité de fer. De plus, les fibres musculaires lisses, d'après Lubarsch et Hintz, peuvent transformer l'hémoglobine des exsudats en pigment ne renfermant pas de fer ou hémofuscine.

Lorsqu'on examine sur les animaux récemment tués, ou sur les cadavres, un organe riche en fibres musculaires lisses, l'estomac, la vessie, on trouve la réaction de l'hémoglobine réduite. Sur les mêmes muscles mis à nu pendant la vie, c'est le spectre de l'oxyhémoglobine qu'on observe, sans obscurité dans le spectre, ni présence de bandes que produirait une pigmentation spéciale analogue à la myohématine. J'ai recherché

---

[1] GŒBEL. — *Dépôt de pigment dans la musculature intestinale.* Archiv. f. Pathol. Ana. CXXVI. 34.

sur des vessies de cobayes ou d'autres mammifères l'existence de ce pigment, mais jusqu'à présent je ne l'ai point constatée.

Examen des muscles après la mort. Spectroscopie des viandes. — Lorsqu'on examine les muscles d'un animal égorgé, ou assommé, comme on le fait dans l'abatage des boucheries, l'on constate, quelques minutes après la mort, dans les muscles mis à nu, les caractères de l'hémoglobine réduite. Il est facile de contrôler le fait chez les mammifères et les oiseaux, morts de traumatisme, et aussi chez les poissons et les reptiles ; mais, pour les animaux dont la viande est comestible, il est fort intéressant d'étudier plus complètement ces réactions spectroscopiques des muscles. J'ai fait, dans cette voie, un assez grand nombre d'analyses, dont les résultats prouvent l'utilité de ces recherches.

La bonne viande de boucherie montre à la surface une belle coloration rouge, rappelant celle du sang artériel et, en effet, l'on y constate les deux bandes de l'oxyhémoglobine réduite, mais, si nous pratiquons une coupe dans le filet ou la côtelette que l'on vient de débiter la coloration est moins vive, un peu violacée, et le spectroscope montre la bande unique de l'hémoglo-

bine réduite. Or, cette surface, exposée à l'air, devient plus rouge, et montre au spectroscope un mélange d'hémoglobine réduite et d'hémoglobine oxygénée, et enfin, dans un temps variable, de cinq et dix minutes pour les viandes fraîches, vingt minutes, à vingt-quatre heures après la mort, l'on constatera qu'à sa surface aérée le muscle n'offre plus que les caractères de l'oxyhémoglobine.

Telle est la première période ; elle présente d'ailleurs cette particularité que l'oxygénation de l'hémoglobine est d'autant moins rapide que la viande est plus éloignée du moment de la mort, et lorsqu'il s'agit de viandes de gibier, de viandes d'animaux surmenés, plus ou moins triturés, les phénomènes sont plus complexes ; dans ces cas, on voit généralement, trente-six heures à quarante-huit heures après la mort, le spectre de la méthémoglobine à la surface des muscles, et sur les coupes qu'on y pratique, mais vingt heures plus tard, on ne retrouve plus que le spectre de l'hémoglobine réduite. C'est alors que les phénomènes de putréfaction viennent compliquer l'examen.

Dans les muscles soumis à la cuisson, on retrouve l'hémoglobine, dans les viandes rôties surtout, telles que les côtelettes de mouton, la

viande de bœuf, etc., et enfin, dans les muscles conservés par salaison, les viandes fumées, c'est encore le spectre de l'hémoglobine réduite que l'on constatera ; cependant souvent par l'exposition des jambons à l'air, on perçoit un spectre mixte composé de deux bandes d'oxyhémoglobine avec mélange d'hémoglobine réduite.

Pour examiner ces phénomènes, il suffit d'étudier à la lumière diffuse et directe les surfaces de ces viandes, ou d'en faire des coupes, épaisses seulement de quelques millimètres et en forme de coins. On a ainsi des épaisseurs progressives que l'on rend transparentes par la macération dans la glycérine.

Myospectroscope. — Il faut rapprocher de la spectroscopie des muscles une application très ingénieuse, faite par Ranvier, de l'action de la fibre musculaire sur la lumière.

La disposition des disques de la fibre musculaire constitue une série de stries très rapprochées, qui forment une sorte d'appareil optique analogue aux « réseaux » et produisent des spectres de diffraction. Pour les mettre en évidence, il suffit de faire une préparation de fibres musculaires striées bien parallèles, que l'on dispose devant le diaphragme d'une chambre

noire, de façon que l'axe longitudinal des fibres soit perpendiculaire à la fente du diaphragme. On voit alors des spectres symétriques produits par les stries transversales musculaires. Ranvier a construit un petit appareil, le *myospectroscope*, basé sur ce phénomène, et qui permet de reconnaître les bandes de l'oxyhémoglobine comme avec les prismes ou les réseaux.

Le *myospectroscope* se compose essentiellement d'un tube cylindrique de 4 centimètres de diamètre et de 12 de longueur et muni, à l'une de ses extrémités, d'un diaphragme percé d'une fente linéaire et verticale. A son autre extrémité, le cylindre creux présente une ouverture ronde pratiquée concentriquement à son axe de figure. Au devant de cette ouverture est disposée une sorte de platine analogue à celle des microscopes, sur laquelle la préparation du muscle qui doit jouer le rôle de prisme, ou mieux de réseau, peut être orientée convenablement et fixée dans sa position à l'aide de volets [1]. Cette partie de l'appareil représente le tube et le diaphragme d'un spectroscope, mais la partie optique propre-

---

[1] Ranvier. — *Leçons d'anatomie générale sur le système musculaire*; recueillies par M. J. Renaut. Delahaye, Paris 1880. p. 142 à 144 (Description et figure du myospectroscope).

ment dite, c'est-à-dire le prisme, est ici remplacée par du tissu musculaire qui est disposé sur la platine.

Ranvier emploie, à cet effet, le muscle couturier d'une grenouille, qui, détaché de ses deux insertions, est fixé en état de moyenne tension à l'aide de petites épingles sur une plaque de liège. Il est séché à l'étuve à une température ne dépassant pas 40°. Le muscle, dont les surfaces ont été aplanies avec le scalpel, est rendu transparent par la térébenthine ou l'essence du girofle, et monté dans le baume de canada, de façon que son grand axe soit parallèle aux bords de la lame de verre sur lequel il est fixé. En plaçant l'un des bords de cette lame perpendiculairement à la fente du diaphragme, on aura disposé convenablement les stries du réseau formé par la striation transversale des muscles (Ranvier, *l. c.*, 10e leçon, p. 143). En d'autres termes, l'axe de figure du muscle étant placé perpendiculairement à la fente du diaphragme éclairée par la lumière solaire, ou par une lumière artificielle convenable, on peut voir, en regardant à travers le trou de la platine, une série de spectres des deux côtés de la fente, et dont les plus brillants sont au centre de celle-ci.

Si l'on place, devant la fente, un tube conte-

nant une dilution de sang aérée, l'on constate les caractères spectroscopiques de l'hémoglobine, comme on le ferait avec un spectroscope à vision directe.

L'une des applications les plus importantes faites au moyen de cet appareil est l'étude de la fibrille musculaire dans l'état de repos ou de contraction ; en effet, Ranvier a constaté que les spectres ne sont point modifiés dans le muscle tendu lorsqu'il passe de l'état de repos à l'état de contraction. Le nombre des stries transversales, dans une longueur donnée de muscle, ne change donc point pendant l'activité dans le muscle tendu, car on sait que les spectres de diffraction sont d'autant plus étendus que le nombre de stries qui constituent un réseau est plus considérable, dans une longueur donnée [1].

Spectroscopie du cœur. — Le cœur, examiné chez les animaux après la mort, présente, à étudier la surface, la texture musculaire et les réactions du sang contenu dans les diverses cavités.

La section musculaire et les surfaces exté-

---

[1] Ranvier. — *Du spectre produit par les muscles striés.* Archives de physiologie, n° 6, 9 novembre 1874, p. 775.

rieure et internes montrent des résultats analogues à ceux que présentent les autres muscles striés que j'ai décrits précédemment, mais avec cette particularité que le pigment musculaire ou myohématine y est plus abondant, et plus spécialement dans le cœur du pigeon (Mac-Munn).

Les réactions du sang contenu dans les cavités offrent une grande importance en médecine légale ; elles ont été étudiées dans mon premier aide-mémoire de spectroscopie biologique.

L'examen spectroscopique du cœur sur l'animal vivant a donné lieu à des recherches physiologiques fort intéressantes. Il peut être pratiqué dans trois conditions principales.

Le moyen le plus simple consiste à mettre le cœur à nu, chez des animaux à sang froid, tels que la grenouille ou la tortue. On peut alors suivre les modifications du spectre à la surface du ventricule et dans les oreillettes, avec l'aide d'un simple spectroscope à vision directe, ou de préférence, avec l'analyseur chromatique qui permet de mesurer l'intensité des bandes.

Or, c'est toujours, dans ces cas, le spectre du sang qui prédomine, le sang veineux ou mixte, c'est-à-dire le sang mélangé d'une plus ou moins grande quantité d'hémoglobine réduite. Les conditions sont un peu plus complexes chez les

vertébrés supérieurs, les mammifères ou les oiseaux ; néanmoins, on peut constater, dans le cas d'ouverture rapide de la poitrine, ou dans diverses conditions expérimentales ou toxico-hémiques, des variations dans l'intensité du spectre de la surface des ventricules ou des oreillettes. J'ai fait à ce sujet des recherches encore inédites, mais qui m'ont démontré ce résultat important facile à vérifier chez les animaux sacrifiés à l'abattoir ou au laboratoire, qu'il y a persistance de contractions ventriculaires et auriculaires plus ou moins étendues, alors même qu'on n'observe plus à la surface de l'organe que de l'hémoglobine réduite.

Un moyen plus délicat de l'étude spectroscopique du cœur consiste à étudier les contractions de cet organe, au moyen de la circulation artificielle du sang, entretenue dans le cœur de la grenouille, par exemple, à l'aide d'un dispositif qui permet de faire contracter par l'électricité le cœur, en même temps qu'on y fait circuler une solution de sang. Les recherches de Gérald Yeo [1] pratiquées au moyen de procédés qu'il a décrits

---

[1] GÉRALD F. YEO. — *An attempt to estimate the gaseous interchange of the frog heart by means of the spectroscope.* The Journal of Physiology, V, VI, n° 3, mars 1885.

avec soin, ont donné des résultats très importants au point de vue de la respiration du muscle cardiaque ; tandis que du sang se réduit entre quinze et vingt-cinq heures dans un tube, dans le cœur en contraction, la réduction se fait en cinquante cinq minutes. La contraction musculaire active la réduction ; si la réduction se produisait en six minutes, il fallait dix minutes pour obtenir la réduction avec douze contractions par minute. Si l'on prend pour unité la durée de la réduction dans le cœur en contraction, on voit que la réduction dans un tube, toutes conditions égales d'ailleurs, demande dix fois plus de temps.

En somme, le muscle respire activement, et alors même qu'il ne peut absorber d'oxygène que par sa surface, qu'il a été privé de l'apport d'oxygène par le sang, il trouve encore le moyen de se contracter, *dans son capital d'oxygène*, quantité qu'il doit récupérer pour que le muscle reprenne son activité fonctionnelle. Ce phénomène est d'ailleurs démontré plus clairement lorsqu'on produit par des excitations répétées la fatigue du muscle cardiaque ; dans ces circonstances, le muscle absorbe avec une rapidité extrême l'oxygène, et réduit l'oxyhémoglobine aussitôt qu'elle est introduite dans le cœur. G. Yeo fait remarquer avec raison que ces con-

clusions ne sont nullement en opposition avec le fait que l'absence de l'oxygène, ou la réduction de l'oxyhémoglobine dans les vaisseaux du cœur, c'est-à-dire la présence de l'acide carbonique ou de l'hémoglobine réduite, déterminent une exagération de l'excitabilité musculaire cardiaque, ce que Brown-Séquard avait démontré, par d'autres procédés d'expérimentation avant Mac-Guire, Ludwig et Schmidt.

Ces citations suffiront, je l'espère, pour montrer l'intérêt physiologique de ce mode d'observation des contractions cardiaques; mais avec l'observation directe et surtout au moyen de l'analyseur chromatique, ces expériences seront plus faciles à exécuter et à varier.

Spectroscopie du poumon. — Les poumons présentent le spectre de l'oxyhémoglobine, soit à leur surface, soit sur des coupes, aussitôt qu'ils ont été en contact avec l'air, et c'est pendant plusieurs jours après la mort que ce caractère persiste, alors que dans tout autre organe on ne trouve que de l'hémoglobine réduite.

Lorsqu'il y a des lésions pulmonaires, ces caractères sont modifiés. C'est ainsi qu'après la mort, dans les portions atélectasiées, dans les foyers congestifs ou dans les noyaux apoplec-

tiques, on observe les caractères de l'hémoglobine réduite ou même, suivant l'état de putréfaction, de la méthémoglobine.

Ces phénomènes s'expliquent parce que le sang, dans les poumons, reste en présence d'une certaine quantité d'air, et peut-être aussi parce que le tissu pulmonaire est un de ceux dont le pouvoir réducteur est le plus faible, ainsi qu'on peut le constater quand on fait macérer des portions de poumon avec une solution de sang.

Nous ne parlerons pas des autres organes dans ce chapitre, parce que, en dehors du sang qu'ils contiennent et dont le spectre prédomine toujours, les pigments que certains d'entre eux renferment, comme le foie, la rate, les capsules surrénales, ne donnent pas à l'examen direct des caractères spectroscopiques assez prononcés pour être étudiés avec profit, et parce qu'il vaut mieux étudier ces pigments à part, après les avoir extraits de ces organes.

CHAPITRE IV

—

SPECTROSCOPIE DES HUMEURS

Charles Robin, dans ses leçons sur les humeurs, a démontré que l'étude des humeurs fait partie de l'anatomie, au même titre que celle des tissus, c'est-à-dire que l'*Hygrologie* ou *étude des humeurs* est une division de l'*Anatomie générale* aussi importante que l'*Histologie* ou *étude des tissus*. Les progrès de la chimie biologique, les tendances actuelles de la physiologie générale, ont, depuis vingt années, mis en lumière les déductions fécondes de l'étude des humeurs, et en particulier des sérums, pour la thérapeutique.

La spectroscopie, comme moyen d'analyse des humeurs présente une utilité incontestable ; en effet, ainsi que l'a dit Ch. Robin [1], l'étude

---

(1) Ch. Robin. — *Leçons sur les humeurs normales et morbides du corps de l'homme*. 2e édition, 1874, p. 16, J. B. Baillière, Paris.

de la couleur que présentent les diverses humeurs peut avoir une double origine en rapport avec leur constitution physique et anatomique ; la bile et l'urine seules, en effet, reçoivent leur coloration de la présence d'un principe coloré liquide ou en dissolution ; d'autres, comme le sérum, la doivent à la nature même de leurs principes constitutifs dominants, qui sont de nature graisseuse. Le sang, le pus et beaucoup d'humeurs accidentelles ou accidentellement colorées, doivent leur couleur aux éléments anatomiques qui s'y trouvent en suspension et qui réfléchissent la lumière en lui donnant la teinte qui leur est propre ; d'autres humeurs, comme le lait, le chyle et parfois l'urine, le sérum du sang et, en général, les hémolymphes des animaux inférieurs reçoivent leur couleur de quelques-uns des principes constitutifs mêmes de l'humeur qui, n'étant pas miscibles aux autres, se réunissent en gouttelettes qui restent en suspension émulsive flottant dans le fluide, comme le font ailleurs des éléments anatomiques. En dehors de ces conditions, les autres humeurs sont généralement transparentes, incolores ou à peine teintées par les principes qui les composent.

L'étude des colorations des humeurs fait donc

partie du domaine de la spectroscopie biologique, et l'exposé systématique en doit être fait suivant une classification en accord avec la pathologie générale, c'est à-dire en les divisant en quatre groupes bien définis par leur origine et leurs propriétés générales.

1° Les *humeurs constituantes* qui, comme le sang, la lymphe et le chyle, les hémolymphes, empruntent leurs matériaux constitutifs aux milieux dans lesquels ils sont plongés.

2° Les *humeurs sécrétées* ou *sécrétions*, dites récrémentitielles, comprenant les liquides des glandes vasculaires closes. les sérosités, les humeurs transitoires ou de génération telles que le sperme, le lait, l'ovarine, le liquide de la vésicule ombilicale.

3° Les *humeurs excrémento-récrémentitielles*, comprenant tous les mucus et les larmes, la salive, les sucs gastrique, pancréatique, intestinal, la matière sébacée, et enfin, au premier rang comme importance, la bile.

4° Les *humeurs excrémentitielles* ou *excrétions* qui comprennent la sueur, l'urine, les liquides amniotique et allantoïdien.

Enfin, il faut joindre à l'étude des humeurs, celle des *produits médiats* : le chyme, le méconium et les matières fécales.

Je suivrai cette classification, mais l'on ne s'étonnera pas de la différence d'étendue départie à chacune de ces divisions, parce qu'elle est en rapport avec l'importance des études de spectroscopie dont elles ont été l'objet.

Humeurs constituantes. — Je ne reviendrai pas sur la spectroscopie du sang, type des humeurs constituantes, parce qu'elle a été exposée avec détails dans mon premier aide-mémoire, et que les compléments s'en retrouvent dans les premières divisions de ce second volume; mais je consacrerai ce chapitre à l'étude des autres humeurs constituantes telles que le sérum du sang ou des hémolymphes des animaux inférieurs, et enfin de la lymphe, du chyle, des sérosités.

Sérum du sang. — Lorsqu'on laisse le sang se coaguler spontanément, on peut séparer du caillot une partie liquide qui est le sérum. Cette humeur présente une coloration variable, jaune citron chez l'homme, le mouton, elle est ambrée chez le cheval, rougeâtre chez le bœuf, faiblement colorée en jaune chez le chien, le chat, l'âne, presque incolore chez le lapin, orangée chez les oiseaux, en somme, plus ou moins jaune chez

les animaux à sang chaud ; elle offre aussi dans diverses conditions anormales des colorations dues à la présence des pigments du sang, de la bile et de l'urine.

L'examen du sérum présente certaines difficultés techniques, car ce liquide ne peut être examiné qu'après la coagulation du sang, lorsque les globules rouges et l'hémoglobine en ont été complètement séparés.

Chez le cheval, le plasma et le sérum se séparant spontanément des globules, et il est facile d'apprécier la coloration jaune du sérum et de l'examiner avec le spectroscope ; au contraire, chez l'homme, la séparation du sérum est plus délicate ; néanmoins elle peut être faite, soit au moyen du sang provenant d'une saignée, de l'application de ventouses, de sangsues, ou même en extrayant d'un des doigts, par une piqûre de lancette ou de plume dite vaccinostyle, quelques grammes de sang. Pour éviter que le sérum dissolve l'hémoglobine des hématies, on devra opérer la séparation à une température basse, a 0°, ce qu'on obtient en maintenant le sang recueilli dans une éprouvette, au centre d'un réfrigérateur ; la disposition de cet appareil est des plus simples. Qu'on emploie des boîtes de bois, des cylindres de fer blanc ou de verre, ou

de simples bocaux, il suffira de conserver l'éprouvette dans une couche de glace qui soit elle-même isolée de l'air ambiant par un corps mauvais conducteur.

Un procédé plus expéditif consiste à produire la précipitation des globules au moyen d'un appareil à force centrifuge, tel qu'on l'emploie dans la plupart des laboratoires, sous divers modèles.

Le sérum contient, à l'état normal, un pigment particulier, qui se rapporte au groupe des lipochromes, pigments jaunes, dont on retrouve les dérivés des matières grasses, sous des formes variées, dans l'organisme des animaux de toutes classes. Ce pigment a été décrit et isolé sous le nom de *lutéine* et de *sérum lutéine*, analogue ou probablement identique à la lutéine ou ovolutéine de Thudichum.

Krukenberg l'a extraite du sang du bœuf au moyen de l'alcool amylique, et Halliburton a employé avec un égal succès l'alcool éthylique ou l'éther chez divers mammifères, des oiseaux et la tortue.

La lutéine du sérum présente un spectre caractérisé par deux bandes d'absorption, la première dans le vert bleu entre *b* et F, la seconde F et *b* dans le bleu.

Vogel, Halliburton, chez les oiseaux et les am-

phibiens ont trouvé un pigment jaune ne présentant qu'une bande d'absorption.

Suivant Hammarsten et Mac-Munn, ce pigment serait identique au pigment biliaire, et il n'est pas douteux, en effet, que l'on ait observé chez des animaux ictériques et surtout chez l'homme la présence de la bilirubine, et aussi de l'urobiline dans le sérum.

Les recherches de Hayem, qui a méthodisé l'examen du sérum du sang chez l'homme dans divers états pathologiques, démontrent l'importance de ces études spectroscopiques. Le sang est extrait à l'aide d'une piqûre au niveau de la pulpe d'un doigt, l'annulaire ou le médius ; il est recueilli dans une petite éprouvette de 3 centimètres cubes environ, dans laquelle le sang se coagule ; on le conserve à basse température.

Je ne saurais mieux faire que de citer textuellement les conclusions des recherches de Hayem [1].

Le sérum présente normalement une coloration verdâtre ou jaune verdâtre claire...

« Les colorations anormales du sérum se distinguent, suivant leur origine, en deux variétés

---

[1] Hayem. — *Du sang et de ses altérations anatomiques*, p. 397, etc., Masson, 1889, Paris.

principales : l'une d'origine biliaire, l'autre d'origine directement sanguine. C'est dans l'ictère ordinaire que le sérum présente la coloration jaune verdâtre la plus prononcée. L'intensité de cette coloration est naturellement en rapport avec la coloration anormale des téguments. En général, elle est sans mélange. Bien que la bile ait la réputation de dissoudre les globules rouges, le sérum ictérique ne renferme pas plus d'hémoglobine que le sérum normal ».

« Dans plusieurs cas d'ictère chronique avec coloration bronzée des téguments, j'ai trouvé le sérum remarquablement coloré et cependant presque absolument dépourvu de la matière colorante du sang. En faisant l'étude du sérum dans l'ictère, je m'attendais à trouver une différence entre la coloration du sérum dans l'ictère ordinaire (biliphéique), et l'ictère dit hémaphéique, contrairement aux théories sur les origines de celui-ci, la coloration du sérum est la même dans l'un et l'autre ictère, et l'examen spectroscopique donne parfois des réactions semblables. Il faut dire cependant que, le plus ordinairement, la coloration ictérique du sérum est plus intense dans l'ictère ordinaire que dans l'ictère dit hémaphéique.

« Dans les cas où les malades rendent de l'uro-

biline sans avoir de coloration ictérique des téguments, le sérum a presque toujours une coloration normale, et, seul, l'examen spectroscopique y fait découvrir une augmentation de l'urobiline ou, tout au moins, de son chromogène, ce qui tient au faible pouvoir colorant de ce pigment.

« Lorsque le sérum recueilli convenablement renferme une notable proportion d'hémoglobine, on doit regarder le fait comme ayant une signification pathologique. Mais, à la vérité, nous n'avons pas ainsi la preuve rigoureuse d'une adultération du plasma, puisque l'hémoglobine peut se dissoudre pendant la séparation du sérum.

« Le sérum hémoglobique est rarement très coloré ; il présente une couleur variable, depuis le jaune orangé jusqu'au jaune cerise peu foncé. Dans tous les cas, il conserve la parfaite translucidité d'un liquide teinté par une matière complètement dissoute, d'où l'expression fort exacte de *sérum laqué*, employée par Landois pour désigner cette altération. On ne confondra donc pas le sérum clair et laqué avec celui dont la coloration serait due à un certain nombre de globules rouges maintenus en suspension ; dans ce dernier cas, le liquide est trouble, et l'examen microscopique lève tous les doutes ».

L'état laqué du sérum s'observe dans un assez grand nombre de circonstances. Il se produit, communément, à la suite des diverses espèces de transfusion, dans les maladies infectieuses, et enfin dans l'*Hémoglobinurie paroxystique.*

Dans certains cas d'empoisonnements par les agents qui transforment l'oxyhémoglobine en méthémoglobine, tels que le chlorate de potasse, les nitrites, certains antithermiques, la thalline, l'acétanilide, etc , il est important de rechercher la présence de la méthémoglobine dans le sérum du sang, de même que dans la sérosité du vésicatoire.

CHAPITRE V

—

LE SANG ET LES HÉMOLYMPHES CHEZ LES INVERTÉBRÉS

Tandis que, chez les animaux vertébrés, le sang est une humeur bien définie, distincte de la lymphe et des sérosités, le liquide analogue circulant dans les animaux inférieurs présente des caractères communs avec la lymphe, les plasmas interstitiels, et se mélange même directement avec des liquides de la cavité digestive ; de sorte que l'on peut observer, dans la série animale, tous les degrés intermédiaires entre le sang, la lymphe, et des liquides lacunaires ou cavitaires dits hydrolymphes, ce qui fait comprendre pourquoi on peut les désigner sous le nom plus général d'hémolymphes.

S'il n'est pas toujours facile de distinguer les pigments qui servent à la respiration de ceux

qui se rapportent à la nutrition comme produits d'excrétion, ou bien des matières colorantes tégumentaires ; il n'en est pas moins intéressant d'étudier directement le liquide circulant dans les interstices des tissus, qui, en définitive, représente chez les animaux invertébrés, le sang, et qui est à la fois un plasma pour les fonctions respiratoires et pour la nutrition.

On sait que, chez les vertébrés, à la seule exception de l'amphioxus et du leptocéphalus (Lankaster), la matière colorante du sang est unique et renfermée dans les éléments cellulaires définis (globules rouges) au contraire l'on rencontre, chez les invertébrés, des pigments multiples, le plus ordinairement dissous dans le plasma, peut-être unis à certains éléments globulaires insuffisamment étudiés.

Ces pigments respiratoires sont nombreux ; l'on en a trop multiplié les variétés, et il faut espérer qu'il sera possible d'en simplifier l'étude synthétique.

Le plus important et le plus répandu des pigments respiratoires est l'hémocyanine, que l'on retrouve chez un grand nombre de crustacés et de mollusques, et qui représente, en quelque sorte, l'hémoglobine chez les invertébrés.

Hémocyanine. — Frédéricq, en 1873, a proposé cette dénomination, pour désigner la matière albuminoïde respiratoire et de coloration bleue que l'on rencontre dans le sang des crustacés et des mollusques.

Elle a été décrite pour la première fois en 1817 par Ermann, et Jolyet et Regnard ont les premiers démontré, qu'unie à une substance albuminoïde elle était liée à la fonction respiratoire. Depuis, les recherches de Frédéricq, Lancaster, Krukenberg, Halliburton, Griffith ont complété l'étude de ce pigment si répandu chez les crustacés et les mollusques.

On peut l'isoler au moyen de la dialyse, soit avec le sang de poulpe, comme l'a fait Frédéricq, ou bien avec le sang du homard (Halliburton). Je l'ai également préparée, avec le sang de langouste et le sang de crabes de variétés nombreuses. On opère comme il suit : le sang, extrait au moyen d'une pipette chez plusieurs de ces animaux, est mélangé avec deux ou trois parties d'eau, soit, dans mes recherches, 15 centimètres cubes de sang de crabes pour 30 centimètres cubes d'eau, ou 20 centimètres cubes de sang de langouste pour 40 centimètres cubes d'eau). Ces liquides sont placés dans le vase supérieur, tandis que le vase inférieur est rempli par 300 gram-

mes d'eau, additionnée de 100 grammes d'alcool à 95° ; laissant la dialyse s'effectuer à une température de 10 à 15°, j'obtenais ainsi, après vingt-quatre heures ou quarante-huit heures, un dépôt bleu grisâtre ou brun verdâtre qui, après dessèchement, ressemble à de la gélatine colorée, se fractionnant en paillettes minces, mais non cristallisables.

Jusqu'à présent l'hémocyanine n'a pu être obtenue à l'état de cristaux ; desséchée, elle se présente sous forme de paillettes brillantes, friables, et de coloration bleuâtre ou, plutôt, variant entre le bleu verdâtre très clair et la teinte neutre.

L'hémocyanine est une globuline ; elle présente les réactions de l'albumine, coagule lentement entre 63 et 66°. Elle renferme du cuivre en quantité notable. Le cuivre de l'hémocyanine semble représenter le fer de l'hémoglobine.

Elle subit des modifications analogues à celles de l'hémoglobine réduite et de l'hémoglobine oxygénée ; en effet, l'hémocyanine, dans les vaisseaux des branchies et au cœur, est bleuâtre étant oxygénée ; au contraire, l'hémocyanine réduite est incolore ; ces phénomènes, existent non seulement dans les vaisseaux de l'animal vivant, mais peuvent être reproduits *in vitro*, par les agents réducteurs ou oxydants. En

effet, l'acide carbonique, l'oxyde de carbone, le gaz d'éclairage, le monosulfure de calcium, le sulfhydrate d'ammoniaque enlèvent à l'hémocyanine, comme au sang qui la contient, la coloration bleuâtre due à l'action de l'oxygène.

L'hémocyanine réduite peut être de nouveau colorée sous l'influence de l'agitation avec l'air ou l'oxygène. Par conséquent, l'hémocyanine est une substance colorante bien déterminé à laquelle on peut assigner un rôle analogue à celui de l'hémoglobine.

Réactions spectroscopiques de l'hémocyanine. — Suivant Frédéricq, Rabuteau, Mac-Munn et Halliburton, elle ne présente pas de bandes spectrales caractéristiques, mais une obscurité des deux extrémités du spectre, qui tranche brusquement sur le spectre. Ces deux zones obscures sont très diminuées ou disparaissent dans l'hémocyanine réduite. Dans l'hémocyanine oxygénée (bleue), elles laissent le spectre seulement légèrement obscur entre B et *b*; puis, à partir de *b* l'absorption continue, augmentant progressivement, de *b* à F, pour s'étendre aux plages bleu, indigo, violet (Halliburton, p. 527) [1].

---

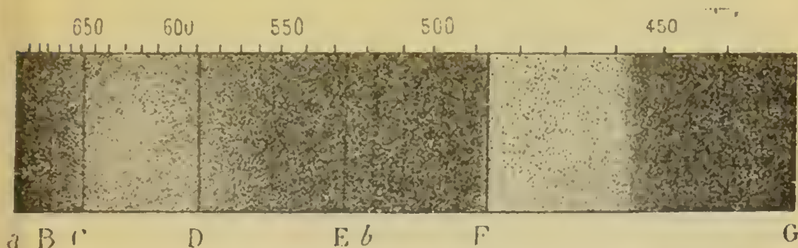
[1] HALLIBURTON. — *Blood of crustacea.* The Journal of Physiology. Vol. VI, nº 6, novembre 1885, p. 301, p. 335.

Krukenberg, au contraire, aurait trouvé en outre une faible bande au niveau de la raie D. Halliburton ne l'a pas constatée chez les crustacés. J'ai, pour ma part, rencontré chez certains crabes, à sang brun verdâtre, une augmentation de l'obscurité du spectre, très notable au niveau de la raie D ; mais je la crois due au mélange de l'hémocyanine avec un autre pigment.

Le spectre le plus typique de l'hémocyanine que j'aie rencontré chez les crustacés est celui d'une grosse squille ou mante de mer, que je reproduis ici. Le sang était, après exposition à l'air, d'une coloration bleue pâle très franche.

On remarquera que sur une ombre générale du spectre se détache une large bande très obs-

Fig. 8



Hémocyanine

cure commençant à peu près au milieu de l'espace D et E (vers 560 λ) et atteignant rapidement son maximum d'intensité vers E. Cette bande s'étend jusqu'à F où elle s'affaisse très ra-

pidement pour laisser le bleu seulement un peu obscur entre F et G où l'absorption est complète dans l'indigo et le violet. D'autre part, le spectre très obscur jusqu'à C laisse, entre C et D et au-delà, les plages rouge, orange et jaune, même le jaune verdâtre (de 550 à 557 λ) apparaître, bien qu'elles soient assombries.

Il y a d'autres pigments dans le sang des invertébrés, mais leur importance est secondaire ou leur nature moins nettement déterminée ; ils seront signalés d'une manière succincte à propos de l'étude des hémolymphes des diverses classes d'invertébrés.

Sang des mollusques. — On trouve dans cette classe d'animaux des différences d'organisation qui expliquent comment le sang n'existe qu'à l'état d'hydrolymphe, c'est-à-dire incolore, dépourvu de pigment respiratoire ; tel est le cas dans la plupart des Lamellibranches.

Cependant, suivant Lankaster, le sang des Solen (*vulgo*, manches de couteau) et des arca renferme de l'hémoglobine, non dans le plasma mais dans des corpuscules sanguins définis.

Chez les gastéropodes, on ne trouve de l'hémoglobine que fort exceptionnellement, chez les planorbes ; c'est l'hémocyanine qui constitue le pig-

ment respiratoire du sang dans la plupart des gastéropodes aquatiques, ou terrestres, en particulier chez les hélix ou colimaçons. Le sang est incolore chez les doris, les aplysies, et semble n'être qu'une hydrolymphe.

Les *céphalopodes* présentent un sang d'une organisation supérieure ; c'est une hémolymphe typique ; c'est dans le sang de l'octopus (poulpe vulgaire) que Frédéricq a découvert l'hémocyanine, et celle-ci se rencontre chez beaucoup d'autres céphalopodes.

Sang des crustacés. — On retrouve l'oxyhémoglobine dans les espèces inférieures des crustacés (sous-classe des entomostracés) ou les branchiopodes, et en particulier les daphnis, les cypris, la clavella, le lernanthropus et le cheirocephalus, les apus. On peut facilement constater la présence de l'hémoglobine chez les individus vivants, soit sous la loupe, le microscope ou même une cuvette contenant un grand nombre de ces animaux ; l'action des réducteurs, et surtout le monosulfure de sodium, est facile aussi à constater. Dans le cas où l'on peut extraire quelques gouttes de sang (comme chez l'apus) il est bon de le recueillir dans un godet de porcelaine blanche où l'action des réactifs est

facile à étudier avec un spectroscope à vision directe.

La présence de l'hémoglobine chez les animaux s'accompagne d'une disposition vasculaire particulière et d'un appareil branchial spécial ; elle est liée, non seulement à la respiration aquatique de ces animaux, mais aussi à leur habitat ordinaire dans les eaux stagnantes, les marécages, dans des milieux où l'oxygène est réduit à son minimum, et aussi dans les lacs profonds et les cavernes obscures. Peut-être aussi la présence de l'hémoglobine est-elle favorisée par la décomposition des feuilles, des débris organiques des végétaux, principalement dans les fonds vaseux composés de sables ooligistes et plus ou moins ocreux, qui renferment de l'oxyde de fer.

Les crustacés supérieurs ou malacostracés présentent un sang d'une organisation très avancée ; il circule ; un cœur et des artères le distribuent vers les branchies, les organes céphaliques, les organes de la nutrition ; des espaces veineux ou des lacunes complètent le circuit vasculaire, et mette en contact avec les tissus le pigment respiratoire l'hémocyanine, qui est l'agent de transport de l'oxygène au sein des tissus. Elle s'oxygéne dans les branchies où elle prend une

teinte bleuâtre et se réduit dans les tissus où elle se décolore.

L'hémocyanine, faut-il le répéter, est donc l'analogue de l'hémoglobine des animaux supérieurs, sauf la constitution chimique, elle renferme des substances albumineuses, 3 à 6 % environ, des sels, 1 à 3 %, 89 à 93 % d'eau et 6 à 10 % de matières solides (Halliburton). Le sang des crustales se coagule, mais la durée de la production de ce phénomène varie, quelquefois immédiate comme chez le homard, elle peut ne se montrer que lentement et progressivement. J'ai constaté que l'action de l'extrait de sangsues présente des variations analogues ; en général, il faut employer des quantités beaucoup plus grandes de l'extrait de sangsues que celles qui conviennent au sang rouge à hémoglobine, pour empêcher la coagulation ; le fluorure de sodium retarde la coagulation ; il en est de même de l'oxalate de soude, et enfin des sels de magnésie.

La coagulation est due à un ferment fibrinogène qui provient des cellules amiboïdes du sang. D'après Rollet, Hewson, Wharton, Jone, Lebert et Robin, il y a en effet des corpuscules du sang chez les crustacés ; leurs caractères et leur rôle dans la coagulation ont été plus récemment étudiés par Halliburton (*On Blood of crustacea*).

Ces cellules incolores possèdent des mouvements amiboïdes, mais on trouve aussi des cellules qui présentent des granulations colorées en jaune, jaune orangé ou rouge ; ce sont des granulations spéciales, d'un pigment rouge, qu'on a étudié sous le nom de tétronérythrine, ou bien des granulations dont la couleur dériverait du lipochrome, ou peut-être même de la biliverdine. La coagulation est fort curieuse à étudier à l'aide de la chambre humide, et j'ai pu très facilement, à l'aide de l'hématoscope micrométrique, constater, comme Halliburton et d'autres observateurs, la présence de globules incolores rappelant dans leur aspect les globules rouges, puis des cellules à noyau analogues à des globules blancs, des cellules amiboïdes, et enfin des cellules pigmentées. Dans la coagulation, les cellules incolores se rapprochent, se réunissent en amas, en forme de cylindres fibrineux, de masses agglomérées, étoilées, et, représentant plus tard de petits amas granuleux d'où s'étendent des filaments fibrineux, constituant, en définitive, un réticulum analogue à celui qui s'observe dans le sang des vertébrés. De plus, l'hématoscope micrométrique démontre facilement, dans la partie capillaire la moins épaisse, entre 5 et 10 millimètres, que les globules incolores se réunis-

sent facilement en se superposant ; ils forment des piles de monnaie de trois, quatre, cinq globules, et enfin se réunissent en sortes de colonnettes sinueuses, semblables à la disposition des globules rouges dite en tubes vermicellés.

J'ajoute, à ces remarques, que j'ai observé l'aspect crénelé et praliné de ces globules.

Dans la partie plus épaisse on trouve, après dessèchement, un réticulum fibrineux, des amas granuleux, des cristaux bleus et enfin des granulations rouges.

Mes observations ont été faites sur le sang d'un gros palémon, et d'un ours ou phalène (Scyllare), à Beaulieu, en mars et en avril 1896. Le sang était d'abord incolore, puis bleuté, chez le palémon, et ensuite rosé, chez la phalène. Si j'insiste quelque peu sur ces recherches, c'est parce qu'elles m'ont amené à conclure que la matière colorante, l'hémocyanine, est contenue dans des globules particuliers, et non pas seulement en émulsion ou en dilution dans le sérum, ainsi qu'il est écrit dans plusieurs livres classiques.

La récolte du sang des crustacés est facile ; on peut, pour l'obtenir, faire, au niveau de l'espace du premier segment membraneux ventral, et sur la partie médiane, une section des parties molles ;

c'est le procédé d'Halliburton, qui donne une plus grande quantité de sang, mais je préfère recueillir le sang dans le cœur lui-même. On pratique avec des pinces coupantes une résection d'un lambeau triangulaire, à la base du segment thoracique de la carapace et à la partie moyenne ; on met ainsi le cœur à nu, et avec une pipette, munie d'un tube de caoutchouc, on aspire le sang. L'avantage du procédé est de permettre d'obtenir le sang absolument pur et d'empêcher le mélange avec la matière pigmentaire rouge de la carapace, qui possède un pouvoir de coloration considérable et existe en grande abondance dans le corps muqueux, surtout à certaines époques (mue ou reproduction). La coloration du sang des crustacés est fort variable ; au moment de l'extraction elle est nulle ou légèrement teintée en bleu, ou même rosée ; enfin, après quelques minutes d'exposition à l'air, on observe soit une teinte bleue plus foncée, soit une teinte d'un brun verdâtre rosé.

Par exemple, sur cinquante-quatre crabes, appartenant à des espèces fort variées : — Pise coralline, crabe commun (*cancer menas*) ; — Maïa verruqueux, Portun tuberculeux, Tourteau, Calappe granuleuse, Dromie vulgaire, Pagure, ou Bernard l'Hermite, étudiés en 1896 à Beaulieu,

le sang n'était qu'exceptionnellement incolore ; il était le plus souvent rosé, devenant brunâtre à l'air, ayant une teinte dichroïque verdâtre et il n'a jamais apparu bleu franc, mais quelquefois franchement rose vermillon. Chez les langoustes et surtout les homards, le sang est plus ordinairement incolore ou bleuté, suivant le degré d'oxydation, mais il y a quelquefois mélange d'une teinte brune. Chez la squille, la teinte bleue est plus prononcée. Chez les palémons, les crevettes, crangons vulgaires, la galathée striée, je l'ai trouvée couleur bleue ou brun verdâtre.

Ces variations ne sont pas en relation directe avec la couleur des téguments, car chez le carcinus vulgaire, le sang peut avoir une couleur plus rosée que chez les crabes rouges et en particulier les dromies et les pagures. La raison de ces variations semble actuellement établie ; en effet, Regnard et Jolyet avaient bien vu que le sang des crabes renfermait deux matières colorantes diverses, l'une bleue, l'autre rouge. Frédéricq retrouva le pigment rouge chez le homard, et en 1882, Pouchet attribuait encore à ces deux pigments une fonction commune. C'est Halliburton qui a le mieux étudié l'origine et les fonctions de ce pigment, qui doit être considéré

comme l'analogue de celui qui colore en rouge les « joues » des faisans et d'autres oiseaux, c'est-à-dire la tétronérythrine.

La *tétronérythrine* peut être extraite facilement du sang des homards ou des langoustes, en précipitant sur un filtre les substances albuminoïdes par l'alcool, qui dissout la matière colorante Celle-ci, après évaporation, et desséchée, se présente sous forme d'écailles amorphes colorées en rouge. J'ai aussi retrouvé ce pigment, mélangé à l'hémocyanine, dans le résidu de la dialyse du sang de crabes.

La tétronérythrine appartient au groupe des Lipochromes dont elle présente les caractères spectroscopiques.

En effet, ainsi que l'a décrit Halliburton [1], une solution alcoolique concentrée de couleur orangée, rouge foncé, donne un spectre dans lequel la région rouge du spectre est absorbée jusqu'à la ligne C, tandis que l'extrémité bleue est absorbée à partir de la ligne E, ou un peu à droite de celle-ci. Dans une solution plus étendue, on observe au niveau de F une légère bande qui se détache de la plage d'absorption complète du bleu et du violet.

---

(1) Halliburton. — *Blood of crustacea*, p. 326.

Les fonctions de la tétronérythrine que, d'ailleurs, Merejkowski [1] a rencontrée dans cent quatre espèces d'animaux vertébrés ou invertébrés sont, d'après cet observateur, liées à la respiration cutanée des animaux inférieurs, et Mac-Munn considère ce pigment comme formé dans le foie ou les organes qui le représentent chez les crustacés ou autres invertébrés, et ayant un rôle dans la respiration cutanée, qui n'est pas défini ; mais ce pigment agit certainement dans la production des variations de la couleur des téguments.

Le sang des vers. — Le plus souvent, on trouve de l'hémoglobine dans le plasma du sang des vers ; lorsque l'on a plusieurs animaux ou des individus assez volumineux, on extrait le sang directement des vaisseaux. Mais, par exemple, chez les arénicoles, les lombrics, les sangsues, les vers de moindre dimension, un procédé qui m'a donné de bons résultats est l'emploi de la loupe associée au spectroscope.

Halliburton a donné la liste suivante des vers chez lesquels l'hémoglobine a été rencontrée par

---

(1) MEREJKOWSKI. — *Sur la tétronérythrine dans le règne animal et sur son rôle physiologique,* Compte rend., t. XCIII, 1881, p. 1029.

Mac-Munn [1], Lankaster, et autres observateurs; j'ai, pour un grand nombre de ces vers, constaté la vérité de ces observations, ainsi qu'il sera facile, à chacun, de le faire pour les plus communs, lombrics, arénicoles, néréis, terebella, etc.

Les vers chez lesquels on a rencontré l'hémoglobine sont :

Chetopoda. — Lombricus, eunice, cirrhatulus, nereis, limnodulus, lumbriculus, naïs, chœtogaster, terebella, tubifex, arénicole, glycera, capitella, euchytrachus, aphrodite.

Gephyrea. — Phoronis, thallasema neptuni, hamingia.

Nemertina. — Polia.

Hirudinea. — Nephelis, hirudo.

Il faut ajouter à cette liste, parmi les *vers nématodes*, le lombric, qui présente une coloration rosée très évidente au moment où il est expulsé. Elle est due à l'hémoglobine, ainsi que je crois l'avoir constaté, le premier, sur un lombric emsurant 15 centimètres et rendu par un enfant de trois ans, le 22 mai 1896.

---

(1) Mac-Munn. — *Quat. Journ. of microsc.* 8 novembre 1885.

Plus tard, cet échantillon a laissé diffuser dans le liquide au formol, où il était conservé, de l'hématine acide.

L'hémoglobine est, en général, dissoute dans le plasma, mais on l'observe, dans des éléments cellulaires spéciaux ou globules du sang, chez les glycera, capitella, phoronis, thallasema et hamingia.

Le sang des vers présente d'autres pigments, la chlorocruorine chez les chétopodes et l'hémérythrine chez les géphyriens, la dromie paraît être un pigment respiratoire puisque, à l'état d'oxygénation, son spectre présente deux bandes, l'une entre C et D, l'autre entre D et E, tandis qu'à l'état de réduction le spectre ne présente qu'une seule bande à droite de D, laquelle a, d'ailleurs, la position de la première bande de l'oxyhémoglobine ; l'hémérythrine est moins nettement définie.

Chez les arachnides, le scorpion, la limule, on retrouve l'hémocyanine (Lankaster et Howel).

Le sang des insectes présente des colorations variables qui sont, en général, en rapport avec la nourriture qui leur est spéciale ; il est plus ou moins jaune, brun ou verdâtre. Les réactions spectroscopiques qu'il offre, peuvent être celles de l'hémoglobine que l'on rencontre à l'état

de petits globules (émulsion) dans le plasma des larves de chironomus ou vers rouges. Ainsi que je l'ai dit dans mon premier aide-mémoire, ces larves renferment de l'oxyhémoglobine en suspension dans l'hémolymphe ; elle s'altère très rapidement à l'air, et dans l'animal lui-même elle se transforme sous l'influence des réactifs de l'hémoglobine, de sorte que ces larves peuvent être l'objet de recherches des plus intéressantes. En effet, leurs mouvements sont faciles à délimiter ; on peut étudier leurs contractions en S, leurs mouvements de propulsion, sous l'influence des divers réactifs. tels que ceux qui agissent sur le sang (monosulfures, permanganate de potasse, perchlorure de fer, etc.), ou ceux qui agissent plus particulièrement sur le système nerveux.

Les réducteurs transforment leur oxyhémoglobine en hémoglobine réduite, les nitrites en méthémoglobine, l'oxyde de carbone, le gaz d'éclairage en hémoglobine oxycarbonée, et ces réactions peuvent être étudiées en examinant ces larves dans l'eau, soit par transparence, dans une petite cuve de verre, soit, de préférence, dans un godet de porcelaine à la lumière directe.

On peut même, comme je l'ai fait dans des

recherches sur l'action de l'ozone, ou de certains sels de fer, apprécier la valeur du contenu de ces larves en oxyhémoglobine ; à cet effet, on examine avec l'analyseur chromatique. Il faut, pour cela, recueillir dans un godet de porcelaine six à douze des larves accolées les unes aux autres.

On trouve aussi dans le sang des insectes à ailes colorées en vert, les sauterelles, les mantes religieuses, les criquets, de la xantophylle et de la chlorophylle ; celle-ci existe aussi chez les cantharides.

L'étude du sang des insectes faite par Frédéricq, Boulton, Krukenberg, 1885, après Mac-Munn et Lankaster, 1881, laisse encore bien des points à élucider. Pour recueillir ce liquide en quantité suffisante, l'on peut utiliser les chrysalides, les larves (en particulier celles du hanneton ou de l'orycte nasicorne, dit rhinocéros, qu'on peut se procurer en quantité suffisante), les mantes religieuses, les sauterelles et, parmi les coléoptères aquatiques, les gros dytiques et surtout les hydrophiles. Chez ces insectes, les plus grands des coléoptères de nos climats, on peut recueillir le sang avec une pipette, dans le cœur, ou le large vaisseau qui le représente ; en ouvrant le mésothorax avec de fins ciseaux, l'on constatera sa

coloration brunâtre, s'accentuant à l'air, et qui est due à un pigment spécial, décrit par Krukenberg, présentant cette propriété commune avec celle du sang de certains lépidoptères et des mites, de ne pas être une fonction d'ordre respiratoire mais un processus *mélanotique.*

En dehors de l'hémoglobine, on n'a pas isolé dans le sang des insectes des pigments respiratoires, ce qui ne prouve pas qu'il n'en existe point.

En effet, lorsqu'on examine les modifications de la myohématine à l'état de réduction ou d'oxygénation dans les muscles des dytiques, des lucanes et des hydrophiles, il est difficile de ne pas faire l'hypothèse de l'existence d'une matière pigmentaire respiratoire dans le sang des insectes.

CHAPITRE VI

LYMPHE ET CHYLE. SÉROSITÉS. PRODUITS D'EXSUDATIONS, DE TRANSSUDATIONS

Nous étudions, sous ce titre, une humeur plasmatique avec ses dérivés et leurs altérations, moins pour signaler les recherches dont elle a été l'objet et qui sont presque nulles au point de vue spectroscopique, que pour montrer les particularités qu'on pourra y rencontrer par l'étude méthodique, au moyen du spectroscope.

Le plasma de la lymphe peut être examiné chez divers animaux; par exemple, dans les cœurs lymphatiques de la grenouille, les gros lymphatiques qui avoisinent la veine jugulaire chez le cheval, et aussi dans la lymphe provenant du canal thoracique. Chez l'homme, la lymphe a été analysée, dans certains cas de fistules lymphatiques, dans le canal thoracique lui-même.

Les observateurs ont souvent signalé la coloration jaune de la lymphe, et celle-ci est peut-être due à la présence de la lutéine, mais la démonstration spectroscopique en est encore à faire. De même, pour la teinte rosée que présente la lymphe, bien qu'au microscope on ait trouvé dans certains cas quelques globules du sang, il y aurait à rechercher si cette explication est suffisante pour expliquer la coloration rosée qui, dans la lymphe, s'accentue par l'exposition à l'air.

Nous sommes un peu mieux renseignés sur les substances colorantes accidentelles de la lymphe, en dehors de l'oxyhémoglobine qui peut être observée dans la lymphe, non seulement lorsqu'elle est extraite des fistules, mais aussi du canal thoracique ; on a retrouvé dans la lymphe les matières colorantes de la bile, et l'urobiline.

Les recherches de Fleschi, de Kunkel, de Kufferath et Harley ont prouvé que dans la rétention de la bile, par ligature du canal cholédoque, la bile est résorbée par les lymphatiques du foie, et que l'on retrouve les pigments biliaires dans la lymphe du canal thoracique.

Wertheimer et Lepage ont récemment repris cette question et apporté des résultats confirmatifs de la présence de la bile dans le canal

thoracique, à la suite de la rétention par ligature du canal cholédoque. Ils ont étudié avec soin les réactions spectroscopiques de la résorption de la bile de mouton, c'est-à-dire de la cholohématine (voir Ch. VII, p. 113).

Le *chyle* est la lymphe des vaisseaux absorbants ou chylifères de l'intestin ; il n'a pas encore été l'objet d'analyse spectroscopique à l'état normal.

Il faut en dire autant de la plupart des *sérosités* normales dont il est difficile de recueillir des quantités suffisantes pour l'analyse.

Telles sont les sérosités du péricarde, de la plèvre, du péritoine, de la vaginale testiculaire, la synovie, la périlymphe et l'endolymphe ; cependant, pour la plupart d'entre elles, qui sont transparentes, il n'y a pas probabilité qu'on y puisse observer de spectre caractéristique, pas plus que dans l'humeur vitrée et l'humeur aqueuse.

Les sérosités qu'on peut obtenir en plus grande quantité chez les animaux supérieurs, chez l'homme et la femme, sont le liquide amniotique et le liquide cérébro-rachidien.

Le *liquide amniotique*, qui est souvent employé en microscopie pour préparer le sérum artificiel, est la sérosité qui entoure le fœtus ; on

la désigne vulgairement sous un nom caractéristique : *les Eaux* ; dans les premiers mois de la grossesse, il est incolore, mais il prend peu à peu une teinte jaunâtre, exceptionnellement verdâtre, lorsqu'il est mélangé avec le méconium du fœtus. Dans ce cas, il peut renfermer des matières colorantes biliaires, et c'est ce que Labruhe observa dans un cas d'hydroamnios, dans lequel l'accouchement, ayant eu lieu à huit mois, l'enfant a vécu.

Souvent on rencontre dans le liquide amniotique une faible bande, en F, qui serait due à la présence de la lutéine, mais, normalement, on retrouve aussi de l'urobiline dans le liquide amniotique, ce qui s'explique facilement, puisque, dans les derniers mois, l'urine fœtale se mélange à cette sérosité, et qu'il est alors difficile de distinguer la lutéine de l'urobiline.

Le *liquide cérébro-spinal*, à l'état normal, est incolore ; j'ai pu constater souvent chez le cobaye, le chien, le chat, le lapin, dans les expériences où j'assistais Brown-Séquard, que l'examen spectroscopique ne donne aucune bande d'absorption, ni d'obscurité du spectre, lorsqu'il n'y a pas mélange de sang au moment où l'on ouvre la cavité cérébro-rachidienne, soit au niveau du bulbe, soit dans les cavités ventriculaires.

Le liquide de l'hydrencéphalie, souvent très clair à une première ponction, devient jaunâtre ou rosé, en même temps qu'il perd sa transparence. Alors, le microscope y révèle quelques globules rouges, des leucocytes, et le spectroscope y fait reconnaître la matière colorante du sang, ou l'un de ses dérivés, et la lutéine, comme dans le sérum du sang ou du pus.

D'une manière générale, il y a, dans les sérosités pathologiques, dans celles des épanchements séreux, dans les liquides de la pleurésie et des arthrites, dans les hygromas et tous les kystes, à rechercher, au moyen du spectroscope, les matières colorantes du sang, oxyhémoglobine, méthémoglobine, hématines, hématoporphyrine, l'hémochromogène, les pigments biliaires, la biliverdine, l'hydrobilirubine ou l'urobiline, parce que l'étude spectroscopique de ces pigments, que l'on peut faire souvent par le liquide extrait de ponctions, donnera au clinicien des renseignements immédiats, avant toute autre analyse.

Le *pus* est généralement considéré comme une sérosité pathologique, d'origine morbide, composé histologiquement d'une partie liquide ou sérum et de globules blancs ou leucocytes, avec certains produits de désintégration. La coloration du pus tient à la présence des leucocytes, à

une matière pigmentaire qui n'a pas été encore suffisamment étudiée et qui serait analogue, sinon identique, à la lutéine ; enfin, accidentellement on y rencontre des pigments jaunes ou bleus, verts ou rouges, d'origine bacillaire, la pyoxanthine, la pyocyanine, dont l'étude bactériologique a été l'origine des remarquables travaux de Charrin. On peut y ajouter la pyoérythrine, mais l'étude spectroscopique de ces pigments est encore à faire.

Il me faut, pour terminer ce sujet, appeler l'attention sur l'analyse de la sérosité des vésicatoires, qui procurent le moyen de recueillir le sérum du sang, et probablement, en même temps, la lymphe ; on y a retrouvé les matières colorantes de la bile, de l'urine, du sang ; et, dans l'hémoglobinurie, on doit rechercher, dans une petite ampoule produite par la vésication, la présence de l'oxyhémoglobine dans la sérosité, en l'absence de globules sanguins.

Il serait aussi fort intéressant d'analyser au spectroscope les phlyctènes des brûlures, celles du pemphigus, et d'autres éruptions cutanées.

Spectroscopie du lait. — Le *lait*, est généralement d'un blanc pur, mais le sérum du lait présente souvent une teinte jaunâtre que

l'on retrouve dans le beurre. Suivant Thudichum, Mac-Munn, ce pigment serait dû à la lutéine; on l'extrait du lait par l'action du chloroforme sur le beurre. Il montre les trois bandes caractéristiques de la lutéine, en F, la seconde entre F et *b* dans le bleu et l'indigo, la troisième au delà de G sur le violet. Suivant Halliburton, la matière colorante du lait et du beurre est un dérivé du *lipochrome*, ce qui ne contredit pas les résultats précédents. Dans l'examen habituel du lait, on ne peut constater les caractères spectroscopiques de la lutéine, mais on trouve une obscurité générale du spectre, qui est plus ou moins prononcée suivant l'épaisseur à laquelle on l'examine ; j'ai utilisé ces phénomènes pour l'analyse du lait, au moyen de l'hématoscope, sous le nom d'examen diaphanoscopique ; je décris dans un autre volume ce procédé qui a fait l'objet d'une thèse très documentée de l'un de mes élèves, le Dr Gerson (Paris, 1892).

L'examen spectroscopique du lait doit être fait dans tous les cas où le lait présente une coloration anormale ; c'est ainsi qu'on déterminera la présence de la matière colorante du sang dans le lait de vache et, plus souvent encore, dans le lait de chèvre. Dans ces cas, en laissant le lait reposer dans un verre conique, les globules

rouges gagnent la partie profonde, et l'examen spectroscopique est facile à faire. Il permettra de reconnaître que la coloration rouge n'est pas due à une sécrétion bacillaire ; en effet, le lait peut prendre une teinte rouge lorsqu'il contient soit le *bacillus prodigiosus*, soit le *bacterium lactis erythrogenes* de Hueppe. Il sera bon d'y joindre l'examen histologique parce que Marchand a trouvé de l'hématosine dans le lait ne contenant pas de globules rouges du sang. Le lait peut, en outre, être coloré par d'autres bactéries qui s'y multiplient accidentellement.

C'est ainsi que la coloration du lait bleu est due au *bacillus cyanogenus* d'Ehrenberg, dont le produit de sécrétion est une matière colorante, étudiée par Furstenberg, qui la rapproche du groupe des couleurs dérivées de l'aniline, sous le nom de triphénylrosaniline.

Le lait peut être aussi coloré en jaune par le *bacterium synxanthium*.

L'analyse des matières colorantes artificielles du beurre offre une importance pratique réelle, Les colorants du beurre les plus habituels sont le safran, le rocou, l'orcanette, les calices d'alkekenge, le suc de carottes, sans parler des substances avec lesquelles on falsifie même ces matières colorantes.

La plupart de ces colorants présentent des spectres qui sont rarement caractéristiques, surtout si l'on est en présence de plusieurs pigments. Cette étude, qui offre un grand intérêt au point de vue de l'hygiène et des recherches des falsifications, mériterait d'être faite méthodiquement, mais elle sort des limites que nous nous sommes tracées.

CHAPITRE VII

—

SPECTROSCOPIE DE LA BILE

PIGMENTS BILIAIRES

La bile est colorée en jaune ou jaune orangé dans la vésicule biliaire, chez l'homme et la plupart des vertébrés ; elle est souvent verdâtre, dans des conditions anormales, chez l'homme, mais habituellement chez les bovidés et les ovidés.

Sa coloration est due à une substance pigmentaire, la bilirubine, et à son dérivé principal, la biliverdine.

Elle donne, en outre, des réactions chimiques spéciales qui produisent des spectres caractéristiques dus aux substances pigmentaires (réaction de Gmelin), soit des réactions dues aux acides biliaires (Réaction de Pettenkofer).

L'étude spectroscopique de ces matières est si intimement liée à l'étude chimique et à la physiologie de la bile, qu'il est nécessaire d'entrer dans quelques détails, sur la composition et le rôle des matières colorantes de la bile, par lesquels on appréciera l'importance des acquisitions de la spectroscopie dans l'étude de la fonction biliaire à l'état normal, et dans ses modifications pathologiques.

Pigments biliaires. — Bilirubine (Syn. cholépyrrine, bilifulvine, biliphéine). $C^{32}H^{36}Az^{4}O^{6}$.

On la prépare au moyen des calculs biliaires rouge brun de l'homme, ou mieux du veau ou du bœuf, dans lesquels elle est unie à de la chaux.

Les calculs sont desséchés, pulvérisés, puis traités successivement par l'eau bouillante, l'alcool, l'acide chlorhydrique dilué, l'alcool bouillant et l'éther ; enfin la poudre est traitée par le chloroforme bouillant, et l'on obtient une solution rouge qui est séparée. Le chloroforme est distillé, mais sans amener la siccité complète. On ajoute au résidu plusieurs volumes d'alcool absolu, et on laisse reposer vingt-quatre heures. Il se dépose une poudre d'un rouge brillant et des cristaux bruns ou bleu d'acier. La poudre et les cristaux sont de la bilirubine pure, et peuvent

être séparés par lévigation avec une forte quantité d'alcool absolu. Ce procédé, employé par Thudichum peut être modifié. La bilirubine est soluble dans le chloroforme, le benzol, les acides et les alcalis, mais à peine soluble dans l'alcool et l'éther, et insoluble dans l'eau.

Elle cristallise, sous forme de cristaux dérivés du système rhomboïdal. La bilirubine, ou matière colorante jaune de la bile n'existe dans cette humeur qu'à l'état de bilirubinates alcalins (Dastre).

La bilirubine, est un acide faible.

Elle verdit sous l'influence de la lumière et des agents d'oxydation. Elle se combine avec le brome (bilirubine tribromée).

La bilirubine en solution alcaline traitée par l'amalgame de sodium, se transforme en hydrobilirubine (voir p. 123)

Sa réaction la plus importante est celle qu'elle donne avec l'acide nitrique légèrement nitreux, et qui a reçu le nom de *réaction de Gmelin*.

La *réaction de Gmelin* est la caractéristique chimique des matières pigmentaires de la bile et permet de les reconnaître dans les diverses humeurs ; c'est pourquoi elle a été étudiée au point de vue spectroscopique.

Si l'on dépose une goutte de bile dans un godet de porcelaine, où elle s'étale en couche

mince, et qu'on laisse tomber au centre de cette goutte une goutte d'acide nitrique légèrement nitreux, on voit la goutte acide s'entourer d'anneaux concentriques successivement colorés en vert, bleu, violet, rouge et jaune.

On obtient un résultat analogue en déposant dans un verre conique ou dans une éprouvette une solution chloroformique de bilirubine, sur laquelle on verse lentement de l'acide nitrique ; celui-ci surnage, et la réaction se fait de haut en bas dans la solution chloroformique ; au bout de quelques secondes, on trouve, au contact de l'acide, la série des couches colorées caractéristiques, vert, bleu, violet, rouge, jaune ; puis les couleurs disparaissent, et il ne reste plus que la teinte jaune uniforme.

On peut également se servir d'une solution alcaline de bilirubine dans l'eau. Dans tous les cas, il ne faut pas employer d'alcool, et l'acide nitrique ne doit contenir que très peu d'acide nitreux. La réaction n'est véritablement caractéristique que si on voit, outre le vert, le violet et le rouge, parce que la lutéine présente aussi les anneaux verts et bleus. Elle est d'ailleurs d'une grande sensibilité, puisqu'elle se produit avec une solution de bilirubine à $\frac{1}{50\,000}$. Cette réaction est produite par des degrés successifs d'oxyda-

tion de la bilirubine, correspondant aux diverses colorations.

Biliverdine	Couleur verte
Bilicyanine	Couleur bleue
Bilipurpurine	Couleur rouge
Cholétéline	Couleur jaune.

Lorsqu'on examine au spectroscope ces diverses teintes, on trouve des différences notables dans les divers spectres, mais surtout prononcées pour la bilicyanine (réaction bleue) et la cholétéline (réaction jaune)(Mac-Munn).

Dans la coloration bleue, on distingue trois bandes, les deux premières à droite et à gauche de D séparées par une plage jaune d'or étroite, dans laquelle on voit la raie D ; la troisième bande est située entre b et F, elle est plus foncée (*fig.* 9, I).

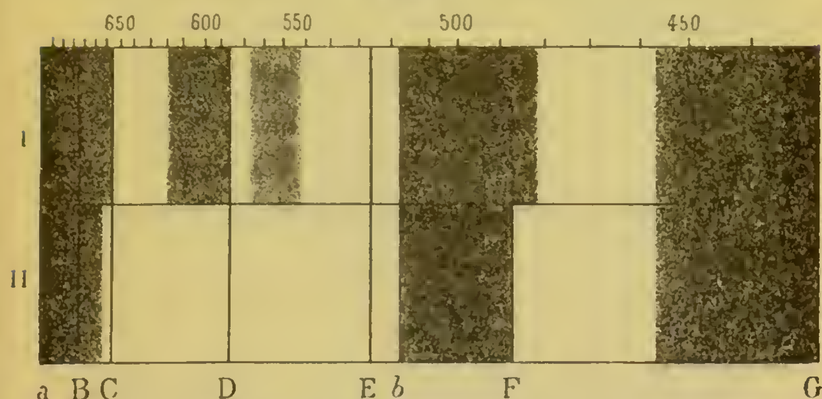
Lorsque la couleur vire au violet et au rouge, l'on constate d'abord la disparition de la première bande à droite de D, puis de la deuxième bande à gauche de D; et enfin, lorsque la teinte est devenue jaune, l'on ne voit plus que la bande située près de F' (*fig.* 9, II).

La *fig.* 9 montre les deux aspects extrêmes du spectre de la réaction de Gmelin.

Ces divers produits d'oxydation n'ont pas

tons été isolés complètement, mais en dehors de la biliverdine dont nous parlons plus loin, Stokvis a étudié la cholécyanine et la bilicyanine, dont les caractères spectroscopiques sont remarquables,

Fig. 9



Réaction de Gmelin

quables, la cholécyanine en solutions neutres présente une coloration vert bleu et bleu d'acier. avec une belle *fluorescence rouge*, ses solutions alcalines sont vertes et à peine fluorescentes.

Les *solutions neutres* ou *alcalines* donnent un spectre caractérisé par trois bandes.

La première dans le rouge, entre C et D, plus près de C, étroite et foncée ;

La deuxième plus étroite couvrant D ;

La troisième est une ombre faible dans le vert, à égale distance de D et E.

Les *solutions fortement acides* ont une coloration violette ou bleu violet, et présentent les deux bandes décrites par Jaffé, à droite et à gauche de D, s'étendant de C à E, mais séparées par un espace étroit au niveau de D, dans le jaune orangé.

Le *spectre de la bilirubine* ne présente pas de bandes caractéristiques, mais une absorption continue qui s'étend du rouge à la fin du violet, Cette réaction est d'ailleurs en rapport avec le pouvoir colorant considérable de la bilirubine dont les solutions à $\frac{1}{50\,000}$ ont encore une teinte jaunâtre.

On peut faire l'examen spectrophotométrique de la bilirubine en suivant les mêmes méthodes que pour celui du sang ; et en effet, Vossius s'est servi du spectrophotomètre de Vierordt pour déterminer la quantité de matière colorante du foie excrétée par heure, dans diverses circonstances, chez des chiens portant des fistules biliaires, ainsi que nous le verrons plus loin, quand nous reviendrons sur les résultats de ses expériences.

Vossius admettant que la coloration de la bile est due, à l'état normal, et avant l'influence de l'air, à la bilirubine, s'est servi de solutions de bilirubine faiblement alcaline de 0,1 %,

0,05 $^0/_0$, 0,025 $^0/_0$, la bilirubine ayant été deux fois cristallisée dans le chloroforme. L'épaisseur à laquelle il observait étant d'un centimètre pour la bile et pour les solutions, il a ainsi déterminé la constante A, coefficient d'absorption, et l'a trouvée :

dans le premier cas	0,00152	
dans le deuxième cas	0,00151	
dans le troisième cas	0,001509	
D'où A =	0,001513	en moyenne (¹)



BILIVERDINE = $C^{32}H^{32}Az^4O^8$.

Ce pigment est le premier degré d'oxydation de la bilirubine ; on le prépare directement par l'exposition à l'air d'une solution alcaline de bilirubine.

Maly l'obtient en faisant agir l'acide acétique sur la bilirubine, ou bien en oxydant la solution sodique de bilirubine par du bioxyde de plomb, séparant la biliverdine par l'acide acétique, et traitant par l'alcool acidifié par l'acide sulfurique, enfin filtrant et précipitant la biliverdine par l'eau.

La biliverdine a pu être préparée, par Hay-

(¹) LEFÈVRE. — *La Spectrométrie*, Encyclopédie Scientifique des Aide-Mémoire de M. Léauté, Gauthier-Villars et Masson, éditeurs.

craft et Scofield, par voie de réduction, c'est-à-dire par l'emploi d'un courant électrique.

La putréfaction des solutions de bilirubine, ou même de la bile, produit aussi la biliverdine par réduction ; fait important à noter parce qu'il prouve que ce n'est pas seulement l'oxydation qui détermine les transformations de la bilirubine.

Hugounenq et Doyon [1] ont indiqué un procédé rapide de transformation de la bilirubine en biliverdine.

On ajoute à la poudre sèche une petite quantité de bioxyde de sodium. On ajoute goutte à goutte de l'eau, puis de l'acide chlorhydrique dilué jusqu'à saturation complète. On verse l'acide jusqu'à l'apparition de la teinte vert franc. On lave le précipité sur le filtre, et le pigment vert est dissout dans l'alcool absolu.

Dastre et Fluoresco ont récemment [2] étudié l'origine des transformations de la bilirubine en biliverdine dans l'organisme, et ils ont établi

[1] Hugounenq et Doyon. — *Recherches sur les pigments biliaires*. Arch. de phys. norm. et path. t. VIII, n° 3, juillet 1896, p. 525.

[2] Dastre et Fluoresco. — *Contribution à l'étude de la bilirubine et sa transformation en biliverdine*. Archiv. de phys. nom. et path., t. IX n° 2, avril 1897, p. 484 à 486.

des conclusions fort importantes, et que je résume : La bilirubine n'absorbe pas spontanément l'oxygène de l'air pour passer à l'état de biliverdine ; cette absorption ne se produit qu'avec les sels alcalins de la bilirubine qui se transforment en biliverdinates, sous l'influence de quatre facteurs ; l'alcalinité du milieu, la présence de l'oxygène libre ou dissous, la lumière, la chaleur. Le pigment vert qui se produit dans la vésicule biliaire ou les dernières voies biliaires, (particulièrement chez les herbivores), résulte de l'oxydation du pigment jaune préexistant. et l'on peut faire l'hypothèse que ce changement naturel est sous la dépendance de l'oxydation hépatique entraînée par la sécrétion biliaire.

La biliverdine se présente sous forme d'une poudre amorphe non cristallisable.

Elle est insoluble dans l'eau, l'éther et le chloroforme, mais soluble dans l'alcool et l'acide acétique, avec une coloration verte ; les solutions dans les alcalis ont une couleur brun verdâtre. Elle précipite par les acides, la baryte, la chaux, les sels de plomb.

Elle présente la réaction de Gmelin, avec l'apparition nette du bleu.

Traitée par l'amalgame de sodium, elle pro-

duit comme la bilirubine, de l'hydrobilirubine, qui ne peut être convertie à nouveau en bilirubine ; cependant Haycraft et Scofield ont obtenu la transformation de la biliverdine en bilirubine, par le repos de la bile verte et l'emploi du sulfhydrate d'ammoniaque.

La biliverdine n'a pas de réactions spectroscopiques caractéristiques différant de celles que produit la réaction de Gmelin, mais celles-ci suffisent à la distinguer des autres pigments ne provenant pas de la bile.

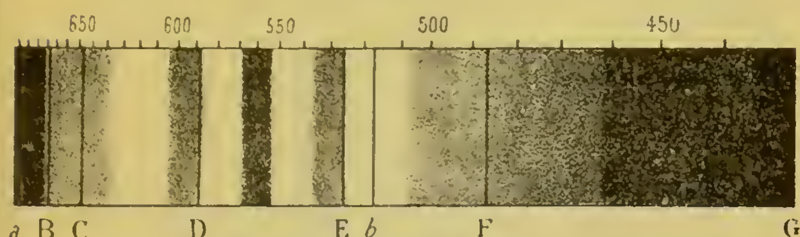
Elle ne se rencontre qu'accidentellement dans la bile normale, dans l'intestin ou dans les vomissements, et aussi dans divers tissus, tels que la portion périphérique du placenta des chiennes, dans les tests des mollusques et la coquille des oiseaux. C'est en définitive un pigment biliaire secondaire chez les vertébrés supérieurs, du moins à l'état normal. Chez l'homme, on l'observe dans certains états pathologiques, alors que la bile est verte.

Cholohématine. — Mac-Munn a désigné sous ce nom un pigment biliaire qui se rencontre dans la bile du bœuf, du veau et du mouton et dont l'étude est des plus importantes au point de vue de la physiologie des pigments biliaires. La cholohématine n'est pas en quantité constante

dans la bile de ces herbivores, mais, quand elle y existe, la bile présente un spectre de quatre bandes, quelquefois trois bandes (*fig.* 10).

Les quatre bandes ont la position suivante :

Fig. 10



Cholohématine

Première bande centre à λ 649 dans l'orangé.

Deuxième bande (centre) de λ 613 à 585 dans le jaune orangé et le jaune vert.

Troisième bande de λ 577,5 à 561,5.

Quatrième bande de λ 537 à 521,5.

En ajoutant de l'alcool absolu et quelques gouttes d'acide acétique, filtrant, puis agitant, avec chloroforme, séparant et filtrant l'extrait chloroformé, on obtient une solution colorée en bronze vert qui donne le même spectre à quatre bandes presque identique.

Première bande de λ 654 à 636.

Deuxième bande de λ 607 à 580,5.

Troisième bande de λ 572 à 560.

Quatrième bande de λ 536 à 516.

En dissolvant le résidu chloroformique dans l'éther, on obtient une solution colorée en vert montrant le même spectre.

Dans le sulfure de carbone, la cholohématine donne quatre bandes un peu modifiées dans leur position.

La première bande de λ 660 à 640.

La deuxième bande de λ 607 à 583,5

La troisième bande de λ 567 à 556.

La quatrième bande de λ 537 à 519.

Ces réactions représentent la cholohématine examinée dans la bile, et elles se retrouvent d'ailleurs dans les solutions de cette substance. On peut préparer facilement la cholohématine avec la bile fraîche de mouton, de veau ou de bœuf, alors même que tout à fait fraîche cette humeur n'est pas colorée en vert ou bronze vert, parce que la bile fraîche jaune brun alcaline peut prendre rapidement la coloration verte par l'action d'un acide faible ou par l'exposition à l'air. Le procédé le plus simple que j'emploie de préférence est le suivant :

La bile est extraite de vésicules biliaires de veau, de bœuf ou de mouton, aussi fraîches que possible, et mélangée avec partie égale d'alcool à 90° acidulé avec de l'acide acétique (trente gouttes pour 100 centimètres cubes) et filtrée.

La solution obtenue, dégagée du mucus, montre déjà nettement le spectre de quatre bandes ; elle est verdâtre foncé à la lumière solaire, diffuse et rouge par transparence à la lumière du gaz, c'est-à-dire dichroïque. Si on agite cette solution avec du chloroforme et qu'on laisse reposer dans un entonnoir à séparation, on obtient une solution chloroformique, d'où l'on peut extraire la cholohématine par l'évaporation, sous forme d'une poudre amorphe résineuse à odeur de musc. La solution chloroformique sous une faible épaisseur, de 5 millimètres par exemple, pour une solution assez concentrée, ayant une coloration vert foncé, montre les quatre bandes caractéristiques décrites par Mac-Munn. Ce spectre ressemble à celui de la chlorophylle ; il n'en diffère que par la position des bandes, leur largeur et surtout les réactions chimiques. La cholohématine n'est donc pas un produit direct de la digestion des matières végétales ; elle n'est pas non plus analogue à la biliverdine, car ses réactions avec l'acide nitrique sont différentes.

La cholohématine présente cette propriété des plus remarquables de pouvoir être transformée en *hématoporphyrine* par l'action de l'amalgame de sodium. Voici comment procède Mac-

Munn pour obtenir cette réaction. Une solution alcoolique de cholohématine diluée est additionnée d'amalgame de sodium et chauffée doucement au bain-marie; au bout de trois à quatre heures elle devient très foncée, et si alors on la traite par l'acide sulfurique en excès, et qu'on la filtre, on obtient un liquide qui présente un spectre analogue à celui de l'hématoporphyrine acide.

On peut ensuite isoler la cholohématine au moyen du chloroforme, sous forme de poudre amorphe dont les solutions présentent des réactions spectroscopiques identiques à celles de l'hématoporphyrine. Ces résultats démontrent qu'il y a une relation intime entre la cholohématine et la matière colorante du sang ; pour Mac-Munn, ces caractères spectroscopiques sembleraient indiquer que la cholohématine est un mélange d'hématine acide et d'hémochromogène.

Une application physiologique fort ingénieuse des réactions de la cholohématine a été faite par MM. Wertheimer et Meyer, dans le but de vérifier la possibilité de l'excrétion, par le foie, des matières colorantes de la bile introduites dans le sang [1].

---

[1] WERTHEIMER. — *Archives de Brown-Séquard*, n° 4, 1891, p. 724.

Ces expérimentateurs ont pensé que cette question controversée, malgré les expériences de Schiff, Vulpian, Beaunis, Vossius, Tarchanoff, Prévost, Binet, Rosenberg et Baldi, pouvait être résolue par l'étude de la bile de chiens auxquels on injecterait, dans l'appareil circulatoire, la bile du mouton ou du bœuf. En effet, la bile du chien, examinée au spectroscope, ne présente nullement des caractères qu'on puisse confondre avec la cholohématine de la bile du mouton ou du bœuf. L'expérience était toute indiquée.

La bile de mouton fut injectée dans la fémorale, et la bile du chien recueillie directement dans le canal cholédoque mis à nu et garni d'une canule.

Or, les conclusions furent formelles, et je les reproduis intégralement.

« Si on introduit dans le sang, chez le chien, de la bile de mouton, on peut voir apparaître, au bout de dix minutes déjà, dans la bile de l'animal en expérience, le spectre caractéristique de la bile étrangère.

« La présence de ce spectre qui appartient à la cholohématine, substance colorante propre à la bile de bœuf et de mouton (Mac-Munn), fournit la preuve indéniable que le foie est apte à rejeter immédiatement, et sans autre élaboration, les

pigments biliaires qui ont pénétré dans la circulation ».

Hydrobilirubine. — $C^{32}H^{44}Az^{4}O^{7}$ (Maly). Ce pigment se prépare en faisant agir l'amalgame de sodium sur une solution faiblement alcaline potassique de biliverdine ou de bilirubine. L'hydrobilirubine contient moins d'hydrogène et plus d'oxygène que la bilirubine. On peut aussi l'obtenir par l'action de la putréfaction de cette solution potassique de biliverdine, sous forme d'un pigment, rose ou brun rouge, qui est un peu soluble dans l'eau, mais facilement soluble dans l'alcool, l'éther et le chloroforme.

L'hydrobilirubine présente un spectre caractérisé par une bande obscure, entre B et F, avec une bande moins foncée située a droite et à gauche de D.

La dissolution ammoniacale additionnée de chlorure de zinc présente une fluorescence verte, et son spectre est composé de trois bandes.

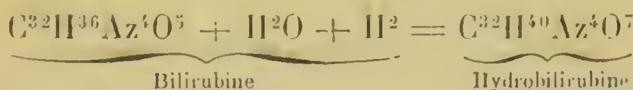
L'hydrobilirubine se rencontre dans la bile humaine (Maly), et dans le sérum du sang du bœuf; elle présente cet intérêt physiologique qu'elle est considérée par certains auteurs comme identique à l'urobiline rencontrée par Jaffé dans l'urine des fiévreux, et aussi à l'urobiline pathologique de Mac-Munn, malgré quel-

ques différences secondaires dans les réactions spectroscopiques. Enfin, elle semble, au point de vue chimique, être analogue à la stercobiline ; mais bien que les spectres de ces deux substances soient fort analogues, il y a dans les réactions des différences qui les font distinguer.

L'hydrobilirubine excrétée par les voies biliaires dans l'intestin peut être résorbée par l'intestin, puis excrétée par les reins sous forme d'urobiline. Mais elle peut être aussi formée dans les cellules de l'économie aux dépens de la matière colorante du sang ou de ses dérivés.

En définitive, à l'état normal elle doit provenir directement de la bilirubine, sinon être élaborée en même temps que ce pigment.

La formule suivante montre les rapports de ces deux substances entre elles.



$$\underbrace{C^{32}H^{36}Az^{4}O^{5} + H^{2}O + H^{2}}_{\text{Bilirubine}} = \underbrace{C^{32}H^{40}Az^{4}O^{7}}_{\text{Hydrobilirubine}}$$

Telle est la réaction qui se produirait en présence de l'hydrogène naissant obtenu par l'amalgame de sodium.

Les autres substances pigmentaires de la bile, telles que la bilifuscine, la biliprasine, la bilihumine, trouvées seulement dans les calculs biliaires, ne présentent, quant à présent, aucun

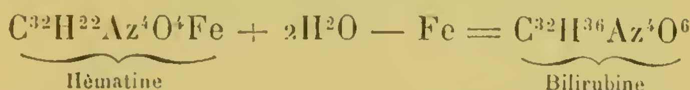
intérêt spectroscopique, et elles sont d'ailleurs incomplètement définies au point de vue chimique.

Diverses matières colorantes se rencontrent dans la bile, mais accidentellement ; telles sont l'hémoglobine et la méthémoglobine, le pigment mélanique.

Rôle des pigments biliaires. — Les données spectroscopiques dans l'étude des matières colorantes biliaires se sont ajoutées aux notions de chimie biologique, avec une assistance et un contrôle réciproque, pour mettre en lumière une série de mutations organiques, objets de discussions, de recherches multipliées mais trop souvent contradictoires, et il est nécessaire de résumer ici l'ensemble des résultats obtenus sur la production physiologique des pigments biliaires, sur leur origine dans le foie, leur excrétion, c'est-à-dire leur passage à travers l'intestin, les modifications qu'ils y peuvent subir, enfin d'étudier ces transformations à l'état normal comme à l'état pathologique.

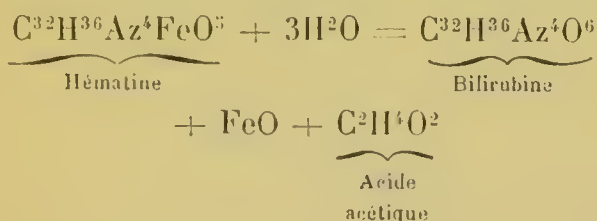
Les matières colorantes de la bile ont pour origine la matière colorante du sang ; c'est ce que démontre l'analogie des formules de la bilirubine et de ses dérivés avec l'hématine qui provient du sang.

L'hémoglobine se transforme en hématine et celle-ci, absorbant de l'eau et se séparant du fer qu'elle contient, produit la bilirubine suivant la formule suivante (Nencki et Sieber).



$$\underbrace{C^{32}H^{22}Az^4O^4Fe}_{\text{Hématine}} + 2H^2O - Fe = \underbrace{C^{32}H^{36}Az^4O^6}_{\text{Bilirubine}}$$

ou bien, suivant une formule analogue (Gauthier)



$$\underbrace{C^{32}H^{36}Az^4FeO^5}_{\text{Hématine}} + 3H^2O = \underbrace{C^{32}H^{36}Az^4O^6}_{\text{Bilirubine}} + FeO + \underbrace{C^2H^4O^2}_{\text{Acide acétique}}$$

Nous avons vu que la biliverdine et la cholételine sont des produits d'oxydation de la bilirubine, que l'hydrobilirubine peut être obtenue de la bilirubine par l'action de l'hydrogène naissant, et enfin que la cholohématine peut se transformer en hématoporphyrine.

Nencki et Sieber ont, de leur côté, préparé une matière colorante isomère à la bilirubine en faisant agir l'acide bromhydrique sur l'hématine.

Des démonstrations beaucoup plus directes sont données par les recherches anatomo-pathologiques faites sur les extravasations sanguines.

Virchow, en 1847, a décrit sous le nom d'hématoïdine un corps cristallisé analogue à la bilirubine ; et depuis, Robin, Jaffé, Salkowski ont confirmé ces résultats. En outre, on trouve la preuve directe de l'origine de la bilirubine par transformation du sang dans la présence de cette substance dans le sérum des chevaux et provenant de la transformation du sang dans les tissus. On trouve aussi la bilirubine ou la biliverdine dans le placenta, et dans le sérum de certains animaux.

Les données expérimentales et pathologiques ne sont pas moins démonstratives ; en effet, de Gorodecki, à la suite d'injections de solutions d'hémoglobine, sous ou dans la cavité péritonéale du chien, a constaté une augmentation des matières colorantes de la bile s'élevant à 60 $^0/_0$, et durant vingt heures, c'est là une démonstration directe, ainsi que celle de Stern qui, après la ligature des conduits biliaires chez les pigeons, a trouvé, cinq heures plus tard, de la bilirubine dans le sérum.

D'une façon générale, les toxiques (acide arsénieux, hydrogène arsénié, sulfure de sodium, etc.), les injections d'eau, de sang d'animal d'une espèce différente, d'alcool, de chloroforme, de toluylendiamine, de sels biliaires et d'autres substances qui produisent une des-

truction globulaire avec séparation de l'hémoglobine ou altération de cette substance, produisent une augmentation dans la quantité de la matière colorante de la bile.

Il est moins facile d'expliquer le mode intime de cette transformation de l'hémoglobine en bilirubine. Cependant, l'histogénèse de la matière colorante a pu être recherchée dans le foie normal ; c'est principalement dans l'intervalle des digestions que l'on retrouve la matière colorante biliaire dans les éléments épithéliaux qui constituent la cellule hépatique, sous forme de globules colorés pigmentaires, et de même, lorsqu'il y a des troubles profonds dans la nutrition cellulaire, on peut alors trouver, soit la matière colorante du sang transformée en hématoïdine, soit une autre transformation plus complète, décrite par Neumann sous le nom d'hématosidérine, pigment ferrugineux provenant de l'hémoglobine, et qui a été constaté dans un grand nombre de cas par Kretz [1] dans le foie de malades atteints de cirrhose. L'hématosi-

---

(1) Kretz. — *Hemosiderin Pigmentirung der Leber*, Braunwiller, Wien, 1896. Cf également sur ce sujet :
Hanot. — *Soc. de Biologie*, 13 mars, 17 juin 1892.
Lapicque. — *Le fer dans le foie*. Soc. de Biol., 8 mars 1897.

dérine se présente dans ces cas sous forme d'amas granuleux intra-cellulaires, reconnaissables au microscope et produisant la réaction du ferro-cyanure.

L'*action de la bile sur le sang* peut être étudiée *in vitro*, de deux manières très différentes. L'une d'elles est fort intéressante au point de vue spectroscopique ; elle consiste à mélanger avec la bile fraîche une petite quantité de sang et à examiner avec le spectroscope ou avec le microscope les phénomènes qui se produisent en quelques heures.

Par exemple, dans une expérience (16, 17 octobre 1896), une goutte de sang est mélangée avec de la bile de cobaye ; examinant avec l'analyseur chromatique, dans un tube de 13 millimètres de diamètre, cette bile colorée par le sang, je constate à dix heures quarante-cinq les trois bandes de l'oxyhémoglobine, avec le verre correspondant à 14 $^0/_0$, mais, à quatre heures, je ne perçois les bandes qu'au verre correspondant à 9 $^0/_0$, et enfin, à quatre heures quarante, les deux bandes de l'oxyhémoglobine ne sont plus perceptibles, même avec le verre bleu condensateur du disque de l'analyseur chromatique.

En somme, il est démontré que la bile, après

avoir détruit l'enveloppe cellulaire des globules rouges, met en liberté la matière colorante du sang ; un procédé de préparation de l'hémoglobine a été basé sur ce fait ; mais l'action continue de la bile altère l'hémoglobine et la transforme en hématine, puis en pigment voisin de la bilirubine.

Dans cette voie, on a essayé de reproduire *in vitro* l'action des cellules hépatiques sur l'hémoglobine, et c'est ainsi que Anthen a observé que la destruction de l'hémoglobine par les cellules hépatiques est complète ; il se produit, dans ces expériences, un pigment appelé par Anthen pigment hépatique, différent du pigment biliaire parce qu'il ne donne pas la réaction de Gmelin. M. Arthus a, de son côté, pensé pouvoir conclure que les globules rouges se dissolvent dans les capillaires hépatiques, et que l'hémoglobine est directement transformée en bilirubine par la cellule hépatique, à condition que cette cellule contienne du glycogène.

A défaut des phénomènes intra-cellulaires qui président à la transformation de l'hémoglobine en bilirubine, il serait fort intéressant de connaître sous quelle forme de combinaison le fer est séparé de la matière colorante du sang. Ce n'est pas par la bile que le fer est éliminé,

car les pigments biliaires ne contiennent pas de fer, et la bile n'élimine pas plus de 0,03 à 0,06 de fer pour une quantité de 1000 grammes de bile.

En définitive, la bile n'excrète pas la quantité de fer qui correspondrait à la transformation de la matière colorante du sang en matières colorantes biliaires, et l'on est bien obligé de conclure qu'il y a dans le foie un dépôt de pigment riche en fer qui, probablement, doit être utilisé à la genèse ou à la restauration des globules rouges, c'est-à-dire à l'hématose, de sorte que le foie ne serait pas simplement une glande destructrice des globules rouges.

Les transformations du sang épanché dans les tissus semblent démontrer la double décomposition de la matière colorante du sang en hématoïdine ou bilirubine, pigment non ferrugineux, et en pigment riche en fer auquel Neumann a donné le nom d'hématosidérine.

Il faut rapprocher de ces données celles de Lapicque, qui tendent à démontrer cette décomposition pigmentaire double : le fer du sang et le fer des tissus, ce dernier constituant la rubigine ou pigment ocré.

Nous croyons donc devoir conclure que c'est dans le foie que se produit normalement la

bilirubine, par la séparation de la matière colorante du sang, et que le fer s'accumule dans le foie, peut-être en se combinant avec la nucléine des cellules, sans que nous sachions exactement comment il en est éliminé, ni quel rôle il remplit dans la rénovation des globules rouges.

L'excrétion des matières colorantes biliaires est généralement en rapport avec celle de la bile ; cependant l'on a observé des cas dans lesquels la matière colorante manquait (Acholie pigmentaire).

Les recherches faites sur des cas de fistules biliaires, chez l'homme même et chez le chien, ont permis d'évaluer la quantité moyenne horaire ou quotidienne des pigments biliaires excrétés.

D'une part, on sait que la bile contient environ 14 grammes de matière colorante, par kilogramme, et que la quantité quotidienne de bile s'élève à environ 1 kilogramme à l'état normal, chez l'homme. L'importance de la fonction pigmentaire du foie est ainsi bien évidente, et l'on ne s'étonnera pas que l'on ait cherché à déterminer, à l'aide d'analyses spectrophotométriques, l'estimation des matières colorantes de la bile.

Kunkel (*Pfluger's Archiv.*, Bd. XIX, p. 353), observant avec le spectrophotomètre de Vierordt

a constaté qu'un chien pesant 4 700 grammes sécrétait quotidiennement $0^{gr},307$ de matière colorante biliaire pour 82 à 86 grammes de bile, et Vossius a fait à ce sujet des études très remarquables.

En effet, Vossius a trouvé chez un chien de 4 700 grammes une excrétion quotidienne de $0^{gr},307$ de matière colorante pour 82 à 86 grammes de bile, ou bien, comme résumé de vingt-six observations, la quantité absolue de matière colorante biliaire, en douze heures, a été, pour 60 à 152 centimètres cubes de bile excrétée de $0^{gr},056$ en moyenne, soit, par heure, de 0,00466. Cette quantité diminue la nuit, où elle est de 0,00438 par heure.

D'autre part, les expériences sur les fistules biliaires chez l'homme (Rank, Wittich, Yeo, Hebrown, Copeman, Bidder et Schmit, et enfin Ransom (1896), ont montré que la quantité journalière de bile excrétée varie de 400 à 900 ou 1050 grammes, ce qui donne approximativement, par jour, 5 à 10 grammes de matière colorante, quantité fort importante au point de vue des fonctions biliaires ; malheureusement, nous ne connaissons pas encore le rôle spécial que la matière colorante de la bile peut exercer dans la digestion.

Néanmoins, l'on peut suivre dans certaines expériences, et dans des cas pathologiques, quelques-unes des transformations de la biliverdine dans l'intestin, car elle est représentée dans les matières excrémentitielles de l'intestin sous forme de stercobiline qui est un dérivé de la bile analogue, sinon identique, à l'urobiline.

L'urobiline intestinale et la stercobiline, sont le mode de transformation définitive de la bilirubine. Dans certaines conditions, il y a résorption de l'urobiline qui est alors de nouveau ramenée dans le foie, et dont l'élimination définitive se fait par les urines sous forme de chromogène de l'urine, d'urobiline normale et d'urobiline pathologique.

Toxicité de la bile. — Ajoutons que la bilirubine est par elle-même toxique, ainsi que l'ont démontré Bouchard et Tapret qui ont constaté que l'injection dans le sang du lapin de la bilirubine, à dose de 0gr,05 par kilogramme, est toxique ; suivant Bruin, la dose toxique serait de 0,26 à 0,103.

Les sels biliaires sont trois à cinq fois moins nocifs ; quant à la bile de bœuf dans son ensemble elle serait neuf fois plus toxique que l'urine.

Ces faits démontrent que l'accumulation de bilirubine dans le sang ne saurait être compa-

tible avec l'état normal, et par conséquent que les pigments biliaires sont des produits excrémentitiels et, exceptionnellement, récrémentitiels.

Tel est le cycle fonctionnel des matières pigmentaires de la bile, ainsi que nos connaissances actuelles permettent de le comprendre.

CHAPITRE VIII

—

SPECTROSCOPIE DE LA BILE

ACIDES BILIAIRES

Les acides biliaires sont à l'état de sels alcalins dans la bile de l'homme qui contient 35 à 50 % de glycocholate de sodium et de 16 à 43 % de taurocholate. Les acides biliaires se retrouvent dans l'urine, et particulièrement dans les urines ictériques ; ils peuvent aussi se rencontrer dans diverses humeurs (sérosités, sérum). La réaction chimique caractéristique des sels biliaires est constituée par l'action simultanée d'une solution de sucre et de l'acide sulfurique ; elle est bien connue sous le nom de réaction de Pettenkofer constamment employée dans les examens d'urologie médicale.

Réaction de Pettenkofer. — Elle consiste à ajouter à une solution d'un sel d'acides biliaires, soit à de la bile pure plus ou moins diluée ou mélangée à d'autres substances dans une humeur (urine, matières vomies, etc.), quelques gouttes d'une solution de sucre de canne, dans l'eau à 20 %, puis, progressivement, de l'acide sulfurique concentré, en quantité variant entre un ou deux tiers du volume de la solution. En agitant le mélange avec une baguette de verre, on surveille la température de façon qu'elle atteigne 60°, mais ne la dépasse pas sensiblement. Par conséquent, l'on refroidit ou l'on réchauffe le mélange suivant les cas, de façon que l'on obtienne une coloration rouge qui s'accentue jusqu'au rouge pourpre.

Cette réaction chimique n'est pas absolument caractéristique parce que certaines substances albuminoïdes, la lutéine en particulier, la produisent, mais si l'on ajoute à l'épreuve chimique l'épreuve des réactions spectroscopiques, il n'y a plus de confusion possible.

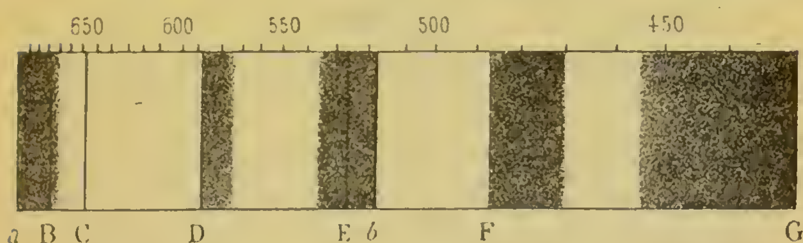
En effet, la coloration rouge pourpre de la réaction de Pettenkofer présente un spectre spécial.

Suivant les premières recherches de Mac-Munn (en 1877), il présente deux bandes

d'absorption, l'une au niveau de F, l'autre entre D et E près de E. Victor Fumouze (dès 1871) avait décrit et figuré ces réactions. La solution violet pourpre obtenue par la réaction de Pettenkofer sur la bile est diluée et rendue transparente par l'addition d'acide acétique.

« Sur ces solutions étendues « dit Fumouze, que je tiens à citer textuellement », on constate un premier phénomène ; elles sont dichromatiques : vertes à la lumière réfléchie, rouge violet à la

Fig. 11



Réaction Pettenkofer

lumière transmise. Placées devant la fente du spectroscope, elles donnent un spectre interrompu par quatre bandes d'absorption.

Première bande à gauche de D.

Deuxième bande à droite de D.

Troisième bande en E recouvrant la moitié de l'espace DE et tout l'espace E*b*.

Quatrième bande en F.

Ces quatre bandes d'absorption ne sont pas

très nettes; leurs bords se confondent avec les régions voisines du spectre.

Si l'on examine des solutions concentrées, on voit la deuxième et la troisième bande du spectre se confondre en une seule bande très foncée occupant la plus grande partie de l'espace DE et tout l'espace E*b*; les deux autres bandes sont aussi plus vigoureusement dessinées.

La bile de bœuf convient beaucoup mieux que la bile humaine, pour l'examen de la réaction spectroscopique de Pettenkofer ».

Bogomoloff [1] avait, dès 1869, ainsi que le rappelle Fumouze, étudié les spectres de la réaction de Pettenkofer sur chacun des acides biliaires isolés et sur l'acide cholalique ; il avait reconnu qu'elle donnait des spectres différents pour chacun de ces acides.

Avec l'acide cholalique le spectre présente deux bandes d'absorption, l'une à gauche de D, l'autre en E, occupant exactement la même position que la première et la troisième bande du spectre de réaction de Pettenkofer sur la bile. avec l'acide glycocholique, le spectre ne présentait qu'une seule bande d'absorption en E,

---

(1) *Neu Reaction zur Entdeckung der Gallensauren.* Centralbl. f. de med. Wissensch., 1869, p. 484. 498.

semblable à la troisième bande de la réaction de Pettenkofer sur la bile. Enfin le spectre de cette réaction sur l'acide taurocholique était interrompu par trois bandes, l'une à droite de D, la deuxième en E, et la troisième en F, semblables aux trois bandes correspondantes du spectre de la réaction de Pettenkofer sur la bile.

Ces réactions se résument dans le tableau suivant :

Sur l'acide glycocholique, une bande en E ;

Sur l'acide cholalique, deux bandes à gauche de D en E.

Sur l'acide taurocholique, trois bandes à droite de D en E et F.

Sur la bile, quatre bandes à gauche de D, à droite de D en E et F.

La réaction de Pettenkofer sur les acides biliaires tels qu'ils sont contenus dans la bile donne un spectre qui est le résultat du spectre de chacun de ces acides soumis isolément à la réaction de Pettenkofer.

Pour achever de démontrer que les caractères spectroscopiques permettent de donner à la réaction toute sa valeur distinctive avec la réaction rouge violette qu'elle produit sur les matières albuminoïdes, il nous suffit d'ajouter que la réaction de Pettenkofer sur l'albumine présente un

spectre différant complètement des précédents. Il ne présente plus qu'une seule bande d'absorption d'une obscurité intense, occupant presque toute la plage *bF* qu'elle déborde à gauche. et en outre les solutions d'albumine traitées par le réactif de Pettenkofer ne montrent pas de phénomènes de dichroïsme.

Cette étude spectroscopique est un des exemples les plus remarquables des applications de l'association des réactions chimiques avec les réactions spectroscopiques, ce qui constitue l'un des principes fondamentaux de la spectroscopie biologique.

C'est encore au moyen de la réaction de Pettenkofer que Schiff a prouvé la circulation entéro-hépatique des acides biliaires. Ayant constaté que la bile du cobaye ne donne pas normalement la réaction de Pettenkofer, il injecta dans l'intestin de cet animal des sels biliaires qu'il retrouva dans la bile. Cette expérience fondamentale a été répétée et variée par plusieurs physiologistes, mais le résultat en a été conforme à celui de Schiff.

Stadelmann a, de plus, montré que, dans cette sorte de circulation entéro-hépatique, les sels biliaires et les pigments biliaires ne sont pas également influencés, car, si l'ingestion de la bile ou

des sels biliaires augmente la quantité d'eau et d'acides biliaires excrétés, elle n'agit pas sur l'élimination des pigments.

Examen direct de la bile chez l'homme. — L'étude spectroscopique de la bile chez l'homme a été faite dans des cas de fistule biliaire, ou dans la bile recueillie dans la vésicule peu de temps après la mort [1], ou dans des autopsies La bile ne présente pas de spectre caractéristique si elle est pure et non acide. Mais dans les solutions concentrées, on trouve une absorption continue dans le spectre, commençant par une légère obscurité du spectre, au niveau du vert, avec extinction des plages bleu cyané, bleu indigo et violet. Dans les solutions plus diluées, Bogomoloff a observé trois bandes d'absorption situées, la première à gauche de D, la deuxième en E, la troisième en F. Ainsi que Fumouze et Mac-Munn je n'ai pu retrouver ces bandes, mais il existe quelquefois une bande indécise en F qui s'accentue cependant par l'action de l'acide chlorhydrique et diminue par les caustiques alcalins. Létienne, dans sa remarquable thèse, rap-

---

(1) Létienne. — *De la bile à l'état pathologique.* Thèse pour le doctorat. Steinheil, Paris, 1891.

porte les résultats de quarante-quatre examens de bile humaine faits dans des conditions très favorables, par ponction de la vésicule, et pratiqués pour la plupart peu de temps après la mort.

Sur quarante-quatre cas, cet auteur a observé, dans la grande majorité des cas, la simple extinction du spectre causée par les pigments biliaires. L'ombre diffusait plus ou moins vers la gauche dans le vert bleu, mais l'obscurité était complète dans les plages bleu, indigo et violet. Dans neuf cas, les spectres ont présenté plusieurs bandes caractéristiques :

1° *Spectres de deux bandes.* — Dans six cas, chez des malades morts de néphrite interstitielle, de cancer stomacal, de cancer épiploïque, d'asystolie cardio-hépatique, et enfin chez deux tuberculeux, la bile a présenté les deux bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine. Ces faits sont à rapprocher des résultats expérimentaux rapportés plus loin à la p. 144.

2° Les spectres à trois bandes ont été observés chez deux malades, une diabétique et une tuberculeuse ; ils se composaient des deux bandes de l'oxyhémoglobine avec une troisième bande diffuse occupant le bleu cyané, c'est-à-dire en *b* et F. Cette bande est caractéristique de l'urobiline.

3° Un spectre à quatre bandes a été trouvé

chez une tuberculeuse. M. Létienne n'en a pas déterminé la signification précise, mais il l'a décrit avec soin : « Outre l'extinction des couleurs « droites du spectre jusqu'au bleu, on comptait « une bande à gauche de D, dans l'orangé (85-91), « deux bandes assez proches l'une de l'autre entre « D et E, dans le jaune (115-120) (124-129), et une « dernière bande à droite de E, dans le vert (145-« 154), assez distante de la zone obscure terminale « pour qu'on pût apercevoir sur sa droite des « rayons verts légèrement assombris [1] ». Ce spectre diffère de celui de la méthémoglobine et du spectre de la cholohématine ; il me paraît devoir être rapportée à l'hématoporphyrine. L'auteur n'a pu en déterminer la nature, mais il n'a pas contrôlé l'examen spectroscopique par les réactions chimiques qui caractérisent les dérivés de l'hémoglobine. J'ai cité ces observations parce qu'elles servent de types pour l'étude spectroscopique de la bile de l'homme, dans laquelle on doit rechercher, non seulement les pigments normaux, mais aussi les pigments qui s'y rencontrent accidentellement,

[1] Les chiffres indiqués correspondent à une notation spectrale, sur laquelle l'auteur ne donne pas d'autre renseignement, et qui est celle de la correspondance de la division 100 avec la raie D.

comme la matière colorante du sang et ses dérivés, l'urobiline pathologique, l'hydrobilirubine et même l'hématoporphyrine ou le pigment mélanique.

C'est principalement dans les biles colorées en vert, en bleu, en noir, en rouge que cet examen sera intéressant car, jusqu'à présent il n'a été fait que très peu de recherches spectroscopiques sur les causes de cette coloration. Cependant il faut savoir que la bile rouge peut être due à une coloration par l'urobiline aussi bien qu'à la présence du sang, que la bile bleue n'est pas due à la bilicyanine, et que la bile noire peut être due à des pigments dérivant du sang ou à la mélanose cancéreuse.

Dans tous les cas, il importera, non seulement de dessiner, de décrire les spectres, et d'indiquer les largeurs des bandes en longueur d'onde, mais aussi les modifications du spectre sous l'influence des réactions chimiques caractéristiques.

C'est ainsi que j'ai constaté la présence de l'hémoglobine et de la méthémoglobine dans la vésicule biliaire de lapins intoxiqués par le produit de la respiration de l'air confiné [1].

---

[1] *Archives de Physiologie*, p. 438, 1889, et Expériences de Brown-Séquard et d'Arsonval *sur le poison*

MM. Wertheimer et Meyer ont pratiqué à ce sujet des expériences tout à fait démonstratives ; après avoir étudié avec grand soin le spectre de la bile du chien [1], ils ont réussi à produire la présence de l'oxyhémoglobine dans la bile, d'une part chez des chiens intoxiqués par l'aniline, les toluidines, et d'autre part chez des chiens soumis au refroidissement. Ils ont conclu que la substance colorante du sang, mise en liberté par l'action cythémolytique de ces poisons, passerait directement dans la bile et très rapidement, produirait une « hémoglobinocholie » qu'il serait possible de rapprocher de l'hémoglobinurie. Ce ne serait pas dans la bile de la vésicule biliaire que se ferait la destruction des globules (hémocytolise) mais l'hémoglobine serait apportée par le sérum du sang en quantité trop grande pour être transformée en pigments biliaires. L'hémoglobine s'accumulerait alors dans les voies biliaires et définitivement dans la vésicule. Dans la plupart de ces expériences, l'hémoglobine a été retrouvée dans le sérum du sang sauf pour

---

résultant de l'air confiné. Archives de Physiologie, 1894, p. 113.

[1] Wertheimer et Meyer. — *De l'apparition de l'oxyhémoglobine dans la bile.* Archives de physiologie de Brown-Séquard, 1889, p. 438.

quelques-unes, ce qui semble indiquer que le phénomène de la présence de l'hémoglobine dans la bile n'est pas aussi simple, dans son mode de production, que le ferait admettre cette théorie de l'hémoglobinhémie préalable, car celle ci serait bien plutôt l'origine d'une hémoglobinurie. Chez l'homme, la présence de l'hémoglobine dans la bile n'a jusqu'à présent été constatée que dans des vésicules biliaires ; il y a donc quelques réserves à faire sur le mode d'origine de l'hémoglobine dans la vésicule biliaire. La recherche des matières colorantes de la bile dans les tissus qu'elles colorent plus ou moins en jaune, dans les téguments, à la conjonctive, dans les viscères, le tissu conjonctif n'a pas été l'objet d'études spectroscopiques; je n'ai, pour ma part, pu obtenir, dans les cas d'ictère que j'ai examinés, une différence spectrale caractéristique, si ce n'est une luminosité plus notable de la plage jaune et jaune vert, qui peut être due au contraste d'une obscurité assez prononcée de la région rouge et de la région bleue et violette.

Dans les diverses humeurs, l'urine, le sérum du sang, les sérosités, certains exsudats séreux, la sérosité des vaisseaux, le liquide des hydrocèles, des pleurésies, on peut retrouver les pigments biliaires; il suffit que leur couleur ou les conditions

dans lesquelles on est amené à les observer à la suite de ponctions, ou dans les autopsies, appellent l'attention de l'observateur, pour qu'il puisse les rechercher à l'aide du spectroscope et des réactions habituelles.

Les *calculs biliaires* présentent le plus souvent les matières colorantes de la bile à l'état accessoire ou bien à l'état de composant fondamental.

Les calculs pigmentaires sont, en général, peu volumineux, mais nombreux, avec des formes arrondies, et ils sont surtout caractérisés à première vue par une coloration brun rougeâtre avec des reflets métalliques.

Thudichum en a décrit qui n'étaient composés que de bilirubine à l'état de combinaison avec la chaux. Maly a trouvé de 25 à 45 °/₀ de bilirubine dans des calculs pigmentaires, Phipson jusqu'à 64 °/₀.

Stadeler a trouvé en outre, dans les concrétions biliaires, la biliverdine, la bilifuscine, et enfin la bilihumine qui semblerait être un produit d'oxydation de la bilirubine particulièrement spécial aux calculs biliaires.

Ces productions pathologiques, que l'on rencontre chez l'homme dans diverses conditions de cirrhose ou d'hépatite chronique, sont très

fréquentes chez les bovidés. Nous avons indiqué comment on peut en extraire la bilirubine.

De la bile chez les divers animaux. — L'étude spectroscopique de la bile a été faite chez un grand nombre d'animaux, et elle présente une réelle importance, ainsi qu'on le verra par les applications qui en ont été faites à la physiologie par Dalton, Mac-Munn, Heynsius et Campbell et par nous-même.

La *bile du porc* ne donne pas de spectre lorsqu'elle est examinée à l'état frais, mais quatre heures après son extraction de la vésicule biliaire, cette humeur apparaît brune en couche, épaisse et jaune ; en couches minces, elle donne une bande d'absorption faible, située à gauche de D, puis une absorption continue s'étendant dans le vert, de la moitié de l'espace entre D et E, jusque dans la région ultra-violette.

La *bile du chien* à l'état frais donne une très faible obscurité, entre D et E, mais non pas une bande bien marquée (Mac-Munn), puis l'absorption totale du bleu et du violet.

Wertheimer et Meyer (*Archives de physiologie*, 5e série, t. Ier, p. 441, 1889) ont étudié avec beaucoup de soin la bile du chien, et leurs conclusions méritent d'être reproduites presque textuellement.

Si l'on place devant la fente du spectroscope, soit une cuvette prismatique, soit simplement un tube à essai contenant de la bile de chien diluée avec de l'eau ou en nature, on voit très nettement une bande d'absorption dans le rouge. Le bord droit de cette bande est assez net, son bord gauche se confond quelquefois avec l'extrémité moins éclairée du spectre. Il faut alors pour le distinguer, ou diluer davantage, ou augmenter la quantité de lumière en élargissant quelque peu la fente du collimateur. Cette bande est comprise entre λ 675 à 653, entre B et C, bordant et recouvrant même C, suivant qu'elle est plus ou moins large. A côté de cette première bande on en trouve une deuxième, bien moins foncée, entre C et D, tout près de D λ 615 à λ 590. Celle-ci peut facilement passer inaperçue. sauf dans certains cas où elle est également bien prononcée. L'autre, au contraire, a toujours été très apparente chez plus de 60 chiens.

Si l'on traite la bile fraîche du chien par l'ammoniaque on voit la première se déplacer vers D, de λ 665 à 638, la deuxième de λ 605 à 582. Si l'on ajoute à la bile du chien quelques gouttes d'acide nitrique, on obtient un spectre semblable à celui que Heynsius et Campbell ont décrit comme caractéristique de la bilicyanine,

c'est-à-dire d'un degré avancé de l'oxydation de la bilirubine ou de la biliverdine. L'étude de la bile du chien a servi de base à la démonstration qu'ont faite Wertheimer et Meyer du passage de l'hémoglobine dans la bile, sous l'influence des intoxications destructives des globules, et aussi à la démonstration du passage dans la bile du chien de la bile du mouton et, par conséquent, du rejet par le foie de la bile introduite dans le sang. Nous l'avons déjà dit, la bile du mouton contient ordinairement une matière colorante dont le spectre est caractéristique, et qui se retrouve facilement dans la bile du chien lorsqu'elle a été injectée dans le sang [1].

La *bile du chat* est jaune avec une teinte verdâtre; en couches épaisses de 5 millimètres, (Mac-Munn) elle ne présente pas de bandes, mais en couche mince elle montre une bande, entre *b* et F, analogue à celle de l'urobiline, et qui est rendue plus foncée par l'action de l'acide chlorhydrique, ou diminuée par la potasse caustique.

La *bile du cobaye* offre des particularités fort

---

[1] M. E. Wertheimer. — *Expériences montrant que le foie rejette la bile injectée dans le sang.* Archives de Brown-Séquard, nº 4, octobre 1891, p. 724 à 734.

intéressantes. D'une part, elle ne présenterait pas habituellement la réaction des acides biliaires (réaction de Pettenkofer), ce qui a conduit Schiff à des expériences fort remarquées. Introduisant de la bile de mouton dans l'intestin des cobayes, il a retrouvé alors constamment dans la bile du cobaye la réaction des acides biliaires. Ces expériences ont été l'objet de controverses nombreuses. Vulpian, Beaunis, Kulz et Grass ont démontré que l'absence de la réaction de Pettenkofer sur la bile du cobaye n'est pas constante.

D'autre part, la recherche spectroscopique directe de la bile du cobaye montre un spectre caractérisé par une première bande, à droite de D, peu intense et ne dépassant pas le vert jaune, puis une bande dans le vert bleu, à droite de *b*, qui se confond avec l'absorption complète des rayons de F à *h*, c'est-à-dire les rayons bleus et violets.

La *bile du lapin* présente trois bandes : la première plus obscure, à droite de D, dans le jaune vert ; la seconde dans le vert n'atteignant pas la raie F ; la troisième s'étendant dans le vert bleu, entre *b* et F, du milieu de l'espace *b*F à F.

L'obscurité générale du spectre, à gauche, dépasse la raie C ; à droite, l'obscurité complète commence dans le milieu de la plage FG, c'est-

à-dire dans le blanc, pour s'étendre jusqu'à l'extrémité du spectre.

La *bile de la souris* est colorée en jaune ; elle présente, en couche mince ou en solution, un spectre très remarquable constitué par une large bande, entre *b* et F, tout à fait analogue à la bande caractéristique de l'urobiline ; elle devient plus foncée par l'addition d'acides minéraux, et diminue par l'action de la potasse caustique.

Ainsi que l'a fait remarquer Mac-Munn, c'est un phénomène bien curieux que l'examen de la bile d'un petit mammifère insignifiant puisse mettre en lumière un des faits de chimie physiologique les plus obscurs, c'est-à-dire le rapport de l'urobiline avec la matière colorante de la bile.

La *bile du mouton, du bœuf, du veau* (voir *Cholohématine*, p. 116) est caractérisée par un spectre analogue ; il est formé de cinq bandes et ressemble à celui de la chorophylle, ou plutôt il donne le spectre de la cholohématine que nous avons décrit et figuré précédemment, p. 117. Il est inutile d'insister une fois de plus sur les applications qui ont été faites par Wertheimer de ces spectres caractéristiques.

La *bile de la chauve-souris* donne une faible bande, vers F, et ensuite une absorption con-

tinue. Chez les oiseaux, la bile ne présente pas des bandes précises et caractéristiques. Chez le canard sauvage ou domestique, la poule, l'oie, le merle, on observe néanmoins la bande plus ou moins obscure au niveau de F.

La *bile du corbeau* est, au contraire, exceptionnelle (Mac-Munn) ; elle montre quatre bandes remarquables, la première dans le rouge, à gauche de C : très nettement obscure ; la seconde, entre C et D, moins obscure ; la troisième à droite de D, dans le jaune vert plus intense ; la quatrième est située dans le vert, près de la raie E ; enfin, à partir de *b*, l'absorption est uniforme et complète.

La *bile de la grenouille* ne présente qu'une faible trace d'obscurité vers F, et une absorption uniforme dans le rouge et dans le violet.

En somme, les spectres de la bile chez les animaux donnent, comme caractère spectroscopique, la bande, entre *b* et F, plus ou moins nette ou séparée de l'absorption continue dans le bleu et le violet ; il est à remarquer que la bile des carnivores et des omnivores offre généralement un résultat peu caractéristique ; celle des mammifères, herbivores, granivores est, au contraire, caractérisée par plusieurs bandes ; les insectivores n'en présentent qu'une. Chez les

oiseaux, au contraire, c'est un omnivore, le corbeau, qui donne le spectre de la bile le plus complexe.

La bile a été peu étudiée au point de vue spectroscopique chez les poissons et les reptiles, et, en dehors de la présence de la biliverdine constatée chez certains mollusques, dans le test ou des produits pigmentés (par exemple le liquide de la sépia), nous devons convenir que nos connaissances sur les pigments biliaires des invertébrés ne sont pas plus complètes que celles que l'on possède sur les fonctions de leur foie, ou des glandes qui les représentent.

TABLE DES MATIÈRES

—

CHAPITRE IV

CHAPITRE V

CHAPITRE VI

CHAPITRE VII

CHAPITRE VIII

TABLE DES FIGURES